

N° D'ORDRE :

4

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE D'INGÉNIEUR-DOCTEUR

PAR

André DANGOUMAU

INGÉNIEUR E. N. A.

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

Soutenue le 6 Juillet devant la Commission d'examen.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

MATIÈRES GRASSES DES FARINES DE FROMENT

Président..... MM. RICHARD, professeur.

Examineurs.. { DUPONT, professeur.
GENEVOIS, professeur.

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

6, Place Saint-Christoly

1933

Digitized by the Internet Archive
in 2026

N° D'ORDRE :

4

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE D'INGÉNIEUR-DOCTEUR

PAR

André DANGOUMAU

INGÉNIEUR E. N. A.

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

Soutenue le 6 Juillet devant la Commission d'examen.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

MATIÈRES GRASSES DES FARINES DE FROMENT

Président..... MM. RICHARD, professeur.

Examineurs... { DUPONT, professeur.
 GENEVOIS, professeur.

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

6, Place Saint-Christoly

—
1933

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

Doyen..... **DUPONT**..... Chimie industrielle.

Doyens honoraires... { **PADÉ**..... Recteur de l'Académie de Dijon.
PICART..... Astronomie.

Professeurs honoraires... { **BÉNARD**.
VÈZES.
VIGOUROUX.
SAUVAGEAU.
BOUNHIOL.
DEVAUX.

Professeurs... { **N**..... Calcul infinitésimal. Analyse supérieure.
PICART..... Astronomie.
GUINCHANT... Physique générale.
RICHARD... Chimie organique.
DUPONT..... Chimie industrielle.
CHAINE..... Anatomie comparée et Embryogénie.
TROUSSET... Mécanique rationnelle.
MERCIER... Physique expérimentale.
DAGUIN..... Géologie et Minéralogie.
DAURE..... Physique.
KIRRMANN... Chimie minérale et Chimie physique.
FEYTAUD... Zoologie et Physiologie animale
DANGEARD... Botanique.
GENEVOIS... Physiologie végétale et chimie biologique.

Maîtres de conférences.. { **AVEL**..... Zoologie.
GARD..... Botanique.
TRUCHET... Chimie.

Maître de conf. adjoint { **ARRIVAUT**.

Secrétaire... **ARTIGUELONG**.



A MES PARENTS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GENEVOIS

Professeur de Chimie physiologique à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MERCIER

Professeur de Physique expérimentale à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SELLIER

*Professeur honoraire d'Hydrologie thérapeutique et de Climatologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Officier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR M.-J. DUBAQUIE

*Docteur ès sciences,
Directeur de la Station agronomique de Bordeaux.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR DUBROCA

Radiologiste.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR RICHARD

*Professeur de Chimie organique à la Faculté des Sciences de Bordeaux,
Chevalier de la Légion d'honneur.*

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
MATIÈRES GRASSES DES FARINES DE FROMENT

INTRODUCTION

Les problèmes que pose aux chercheurs l'alimentation rationnelle de l'homme ont pris depuis le début du siècle une forme nouvelle. Sans doute les études des valeurs énergétiques des aliments, de leur remplacement isodynamique, sont toujours essentielles, mais l'attention a été très vivement captivée par l'influence considérable sur le métabolisme général de ce que l'on nommait l'indosé alimentaire.

Jusqu'à ces dernières années, le chimiste établissait, pour une nourriture proposée à ses investigations : la teneur en matières azotées, hydrates de carbone, graisses et eau. Le calcul des calories apportées à l'organisme, l'établissement des rapports de proportionnalité ou de remplacement, l'évaluation des coefficients de digestibilité, prenaient tous ses soins, mais le rôle des « infiniment petits chimiques », suivant l'expression de G. Bertrand, était ignoré.

Très rapidement cette notion a pris une place prépondérante dans la littérature scientifique moderne, et de nombreux

ses recherches ont été entreprises pour préciser la nature et la constitution chimique de cet indosé, en même temps que le rôle joué par lui dans l'équilibre physiologique.

Parmi les aliments de l'homme de nos contrées, surtout pour les races latines, le blé a une importance considérable.

Il nous a paru intéressant d'essayer de déterminer, en nous plaçant au double point de vue de l'étude physiologique et de la recherche purement chimique, l'importance de certains éléments, jusqu'ici peu étudiés, de la farine de froment.

Notre travail a porté sur l'extrait éthéré des farines, attachant une attention particulière à la fraction insaponifiable de cet extrait. Les résultats obtenus, même dans ce champ limité, sont loin d'être complets, mais apportent, pensons-nous, quelques documents qui peuvent servir de base à des études nouvelles.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE CHIMIQUE DE L'EXTRAIT ETHERE DES FARINES DE FROMENT

Composition de la farine.

L'analyse chimique d'une farine panifiable de qualité moyenne donne les résultats suivants :

Amidon et hydrocarbonées vers	70	p. 100
Gluten..... »	9	»
Eau..... »	15	»
Matières grasses..... »	1,2	»
Cellulose..... »	0,3	»
Matières minérales »	0,5	»
	96	p. 100
Divers..... »	4	p. 100

L'étude très détaillée des principaux éléments, en vue de leur influence sur la valeur alimentaire et boulangère des blés et farines, a été faite par de très nombreux chimistes. En France, Millon (1), Balland (2), Aimé Girard (3), Lindet (4), Fleurent (5), ont précisé nos connaissances, envisageant surtout dans leurs magistrales études : l'amidon, le gluten, les matières minérales.

(1) Voir A. BALLAND, *Les travaux de Millon sur les blés*, Lavauzelle, édit., Paris, 1904.

(2) A. BALLAND, *Les aliments*, 2 vol., Baillièrre, édit., Paris, 1907.

(3) Aimé GIRARD, *Composition chimique et valeur alimentaire des diverses parts du pain de froment*, *Annales de physique et de chimie*, 1884, 3 (6).

(4) Aimé GIRARD et L. LINDET, *Le froment et sa mouture*, Gauthier-Villars, édit., Paris, 1903.

(5) E. FLEURENT, *Le pain de froment*, Gauthier-Villars, édit., Paris, 1911.

D'une façon générale, l'examen attentif de l'extrait éthéré des farines, que les analystes spécialisés désignent sous le nom de matières grasses, a été sommairement abordé, aussi bien en France qu'à l'étranger.

Or nous avons envisagé, dès 1927, que l'action des graisses était loin d'être négligeable sur la partie physique de la panification ⁽⁶⁾. En même temps, l'examen de cet extrait nous a paru présenter un vif intérêt pour étudier éventuellement les facteurs vitaminiques liposolubles présents dans la farine de froment.

*
* *

Histologie du grain de blé. Localisation des matières grasses.

Le grain de blé est un fruit sec, indéhiscent (cariopse), qui se présente sous la forme d'un ellipsoïde de révolution, partagé en deux lobes par un sillon médian longitudinal.

Si l'on procède à l'examen histologique après coupe au microtome (les coupes au 1/50 de millimètre pour étude d'ensemble et au 1/100 pour étude fragmentaire conviennent le mieux), on constate que sur une épaisseur de 1/10 de millimètre environ sont étagées des membranes superposées constituant les enveloppes du grain. Ce sont d'abord :

1° Trois couches extérieures, constituant le *péricarpe* :

- a) épicarpe;
- b) mésocarpe;
- c) endocarpe,

jouant seulement un rôle de protection;

(6) A. DANGOUMAU, *Un problème d'hygiène alimentaire*, Bulletin de biologie clinique, Bordeaux, 1929, (27), 13.

(7) GUÉRIN, *Sur le développement du tégument séminal et du péricarpe des graminées*, thèse de sciences, 1899, Paris.

TABLEAU I

	COMPOSITION %	COMPOSITION de l'enveloppe %	COMPOSITION du grain	PROPORTION d'enveloppe non sèche %	PROPORTION dans le grain non sec %
péri- carpe	Épicarpe ...	41,33			
	{ Eau	3,58	0,504		
	{ Ligneux non azotés.....	24,43	3,515		
	{ Mésocarpe..	7,81	0,347	34,00	4,45
	{ Endocarpe..	4,87	0,083		
	100,00	31,00	4,480		
Tégument séminal	Eau	12,00			
	{ Matières non azotées.....	66,32	0,132		
	{ Matières azotées	46,48	0,729	7,69	4,41
	{ Matières minérales	5,50	0,179		
	100,00	0,46	0,060		
	100,00	7,69	4,400		
Bande hyaline et assise protéique	Eau	44,79			
	{ Matières cellulosiques	29,64	4,037		
	{ Matières azotées	48,29	4,249		
	{ Matières grasses	24,82	2,198	64,31	8,80
	{ Matières minérales	9,43	0,803		
	100,00	3,66	0,325		
	100,00	64,31	8,802	100,00	44,36

2° Trois couches internes, où Guérin ⁽⁷⁾ distingue :

- d) le tégument séminal;
- e) la bande hyaline;
- f) l'assise protéique.

Des travaux d'Aimé Girard ⁽⁸⁾, nous avons tiré le tableau I, qui montre la composition des enveloppes, leur proportion dans le grain de blé et leur apport dans sa constitution.

Pour notre but, nous retiendrons que la substance grasse est contenue dans les couches les plus internes de la matière corticale. L'examen microscopique et les colorations par les teintures spécifiques (orcanète, Soudan-III, etc.) permettent de localiser les graisses dans l'assise protéique, où elles existent sous forme de gouttelettes très fines, en même temps qu'une matière azotée, l'*aleurone*.

Remarquons que les parois de ces cellules sont très résistantes aux réactifs chimiques et aux contusions mécaniques ^(8 bis). C'est donc seulement une petite partie des graisses de l'enveloppe qui diffusera dans la farine en cours de mouture. Mais en supposant qu'elles passent en totalité dans les produits de broyage, la farine panifiable à 70 % d'extraction n'en présenterait environ que 0,506 %. Or le dosage en montre des quantités variables de 0,9 à 1,2 % pour les farines de nos contrées.

Composition du germe.

Le complément est fourni d'abord par les produits venant du germe et enfin par la présence des graisses dans chaque cellule organisée. Le germe forme, d'après Aimé Girard et

(8) Aimé GIRARD, *loc. cit.*

(8 bis). L'examen microscopique des sons et issues montre en effet que, malgré les déformations et les chocs subis en cours de mouture, un très grand nombre de cellules de l'assise protéique conservent intégralement son contenu. D'autre part, pour le dosage des graisses retenues dans ces cellules, Aimé GIRARD a dû transformer les parois cellulosiques en hydrocellulose par traitement à l'acide chlorydrique à 5 % et chauffage à 60° pendant six heures, puis recours à un nouveau broyage fin, au mortier.

Fleurent (9) environ 1,43 % du poids total du grain, et sa composition chimique est la suivante (10) :

Eau			11 55	
	Matières grasses	12 5		
Matières	» azotées	19 32	} 42 23	
insolubles	» celluloseux	9 61		
	» minérales	0 80		
	Matières azotées	19 75	} 46 40	
Matières	» non azotées	22 15		
solubles	» minérales	4 5		
			100 08	

Anatomiquement, le microscope y distingue : la *radicule*, la *gemmule*, les *folioles* et une assise particulière, le *scutellum*, qui le sépare de l'endosperme; celle-ci est particulièrement riche en graisses.

De la teneur en graisse des farines.

Au contraire de la couche protéique, le contenu cellulaire du germe est très aisément attaqué par les réactifs chimiques, et les actions mécaniques font exsuder avec la plus grande facilité l'huile contenue. Cependant, la proportion du germe du grain est faible, et, même en supposant que la totalité des graisses présentes passent dans la mouture, la farine à 70 % d'extraction ne s'enrichirait que de 0 g. 125.

En tenant compte de l'apport, exagéré à dessein par le calcul, de l'assise protéique, le chiffre total ne serait que de : $0.506 + 0.125 = 0.625$, chiffre bien inférieur au taux courant de 1 à 1,2 % des farines commerciales. La conclusion qui s'impose est que les matières grasses sont un élément constitutif de l'ensemble du grain et doivent se trouver aussi bien dans l'amande que dans les parties périphériques.

(9) Aimé GIRARD et FLEURENT, *Recherches sur la composition des blés tendres français et étrangers*, Bulletin du ministère de l'Agriculture, n° 6, 1899.

(10) Aimé GIRARD, *Annales de physique et de chimie*, 1884, 3, (6), 341.

Il nous a paru nécessaire de préciser autant que possible cette constatation, et dans l'impossibilité de séparer entre elles les différentes couches de l'amande du grain de blé par les moyens du laboratoire, nous avons pensé que l'analyse des produits de minoterie pourrait nous donner les renseignements réclamés.

Notions sur la mouture par cylindres.

La meunerie moderne, en effet, fondée sur le principe du travail progressif, permet la séparation successive de différentes couches dans l'épaisseur du grain de blé. Un bref exposé du mode d'action des cylindres nous paraît nécessaire pour l'intelligence des faits exposés.

La mouture du blé, au moyen des cylindres, comprend deux opérations principales :

- a) le broyage;
- b) le convertissage.

Entre ces deux opérations prennent place des tamisages, qui trient et répartissent par ordre de grandeur les produits écrasés et éliminent les issues.

Broyage. — Le broyage est effectué au moyen de deux cylindres cannelés, tournant en sens inverse à des vitesses différentielles. Leur écartement est réglable. Il est évident que la mouture totale pourrait être obtenue avec une seule paire de cylindres que l'on serrerait progressivement. Pratiquement, le réglage reste fixe et le meunier dispose d'un certain nombre de paires de cylindres, sur lesquelles il envoie successivement les produits déjà travaillés. Ceux-ci sont de plus en plus rapprochés, et le nombre des cannelures augmente à chaque nouveau passage. Une minoterie importante possède ainsi ordinairement six passages de broyage.

Suivant le serrage et la place des broyeurs, il faut distinguer dans cette opération deux actions principales :

- 1° Effet d'écrasement et de rupture : rôle des premiers broyeurs;
- 2° Effet de piochage et de râclage : rôle des derniers broyeurs.

Le but est d'obtenir des fragments de grosseur appréciable (gruaux) et le moins possible de farine, car la séparation convenable des parties entraînées de l'enveloppe ne peut s'obtenir une fois la pulvérisation avancée.

Le résultat cherché est obtenu en adoptant pour les premiers passages une cannelure spéciale, dite de Beall⁽¹¹⁾, et pour les derniers passages, on y parvient par l'entrecroisement des cannelures, leur mode d'attaque, leur nombre, etc.

L'amande du grain est ainsi divisée en un grand nombre de particules, cependant que le son, plus élastique, subit un grattage énergique, surtout par les derniers broyeurs.

Enfin, la vitesse différentielle intervient en ce sens que le gruaux, tout en subissant, grâce au cylindre lent qui l'entraîne, un mouvement de translation, est immobile relativement au cylindre rapide : celui-ci l'attaque par la tranche de sa cannelure et le désagrège partiellement. Les gruaux vêtus, c'est-à-dire accolés à une partie corticale, sont déshabillés par ce choc; ainsi le travail de division et d'épuration se poursuit sans arrêt. Chaque fragment peut donc être considéré comme progressivement usé suivant une direction centripète, et les farines ou les fines semoules provenant de cette usure sont immédiatement réunies et séparées, ou classées et dirigées vers les convertisseurs, qui achèvent leur réduction.

Convertissage. — Les cylindres des convertisseurs sont, au contraire de ceux des broyeurs, dépourvus de cannelures.

(11) A ce sujet, voir GRANDVOINET, *Principe d'action des divers appareils proposés pour aider ou remplacer les meules*, *Journal de la Meunerie française*, 1888, p. 321.

Leur action est d'écrasement pur et a besoin d'être soigneusement limité pour éviter l'échauffement anormal de la mouture, préjudiciable à une bonne qualité boulangère. On y parvient par le réglage de l'écartement et en multipliant le nombre des appareils.

Le classement fait par les plansichters (tamis) de broyage permet d'alimenter chaque appareil par les fragments de grosseur directement convenable. On comprend dès lors que chaque farine recueillie soit représentative d'une zone déterminée de l'épaisseur du grain, les farines des premiers passages de convertissage provenant de la partie la plus interne de l'amande.

Une étude chimique de ces différentes farines nous donnera, grossièrement, c'est certain, mais vraisemblablement, la physionomie constitutive du blé considéré par tranches successives.

Analyse des produits de mouture.

Dans ce dessein, nous avons pu faire prélever dans un moulin moderne, dans un minimum de temps et sur une même mouture, l'échantillon de chaque farine fournie par les appareils. L'installation comprenait 6 passages de broyage, 13 de convertissage; nous ne rapportons pas à dessein les résultats obtenus avec les produits finis des désagrégeurs pour ne pas rendre trop complexe notre exposé. Enfin, la conservation prolongée des farines entraînant une altération des matières grasses, les dosages ont été effectués très rapidement, et le temps écoulé entre la prise des échantillons et la dernière analyse a été d'une semaine; les farines étant conservées à la température de 10° et dans l'obscurité.

A titre documentaire, nous inscrivons dans le tableau II, rapportant l'ensemble des résultats, les rendements approximatifs en farine des différents appareils.

TABLEAU II

NATURE des FARINES	HUMIDITE	MATIERES GRASSES % de farine naturelle	MATIERES GRASSES % de farine séchée	RENDE- MENT APPROXI- MATIF du passage
1° Broyeur	13,73	—	—	1,0
2° —	13,63	—	—	3,0
3° —	13,43	—	—	3,0
4° —	13,00	2,233	2,583	3,0
5° —	14,83	2,973	3,393	1,3
6° —	14,3	3,40	3,89	0,3
1° Convertisseur...	13,3	1,07	1,243	4,0
2° —	13,33	1,06	1,233	10,0
3° —	13,20	1,07	1,24	12,0
4° —	14,70	1,44	1,633	6,0
5° —	14,90	1,323	1,32	3,0
6° —	14,43	1,60	1,83	4,0
7° —	14,73	2,11	2,43	1,0
8° —	14,23	1,873	2,13	1,3
9° —	14,43	3,00	3,37	0,3
10° —	14,23	2,32	2,64	2,0
11° —	14,13	3,33	3,79	0,3
12° —	14,07	2,807	3,23	1,0
13° —	13,8	3,02	3,43	0,7
14° —	13,37	3,43	3,90	0,7
15° —	13,4	4,183	4,77	0,3

L'extraction totale de la farine était de 66 %. Le mélange des blés comportait :

- 33 % de blé indigène;
- 16 % de blé manitoba;
- 46 % de blé Red Winter;
- 3 % de blé Plata.

Si l'on voulait avoir une idée approximative des résultats qui seraient donnés par l'analyse des blés français, il conviendrait d'adopter le coefficient 0,83 environ.

L'ensemble de ces résultats montre bien que le taux des graisses va en croissant du centre vers la périphérie. A noter que le dégermage se pratique dans les minoteries modernes, au contraire des anciens moulins à meules. Le germe disparaît en grande partie au cours du nettoyage du grain par le passage sur les épontoises. Ce qu'il en reste est détaché en cours de broyage et parvient jusqu'aux convertisseurs, mélangé aux gruaux de même calibre; il est éliminé

après ces derniers appareils. Les passages où se rencontre le germe sont naturellement plus riches en matières grasses. C'est le cas pour les septième et neuvième convertisseurs, où l'on remarque un brusque accroissement de la teneur en lipides.

L'extraction des matières grasses de ces farines a été faite par la méthode officielle, qui emploie l'éther sulfurique comme solvant. Un séchage à l'étuve de l'extrait éthéré permet d'éliminer l'eau entraînée mécaniquement; le séchage s'effectue à 102° pendant une demi-heure.

Un dosage sur la farine panifiable provenant du mélange des farines partielles, comprenant les farines des désagrégeurs et des brosses, et certains passages de queue étant supprimés, nous a donné 1,32 %^(a).

Cette petite quantité d'huile contenue dans la farine complicate singulièrement toute étude d'ensemble de cette matière, d'abord par la difficulté d'extraction, ensuite et surtout parce qu'elle est éminemment altérable. Si bien que l'extraction étant longue et malaisée, les premiers échantillons obtenus peuvent être profondément modifiés avant que l'on ait réuni la quantité de substance nécessaire au travail. Enfin, pour peu que dure l'expérience, la farine elle-même s'altère.

Extraction des graisses en vue de leur étude.

Le problème à résoudre était donc des plus complexes. Il fallait adopter :

- a) Un mode d'extraction rapide;
- b) Un solvant bien adapté à l'extraction des seuls lipides et aussi économique que possible;
- c) Assurer la conservation de la matière première et des produits d'extraction.

(a) Nous indiquons que l'on ne pourrait par le calcul obtenir ce chiffre à partir du tableau II. En effet, les farines des désagrégeurs n'y figurent pas. En outre, certains passages colorés ou nuisibles à une bonne conservation sont retranchés de la farine panifiable.

Choix de l'appareil. — L'épuisement au moyen des percolateurs ordinaires des pharmaciens s'est avéré une opération longue et consommant une grande quantité de solvant.

Cinq kilos de farine retiennent en effet énergiquement de 3 à 4 litres d'éther sulfurique, suivant leur humidité; c'est donc sur cette perte qu'il faut compter à chaque nouvelle charge de l'appareil.

L'emploi des appareils continus du genre Soxhlet nous a paru également peu recommandable; en effet, les allonges de ces appareils sont de petites dimensions. L'appareil le plus grand que nous pouvions nous procurer ne contenait que 700 grammes de farine. L'opération menaçait d'être interminable; en outre, une certaine quantité de solvant est retenue à chaque nouvelle charge de l'appareil. En présence de ces difficultés, nous avons imaginé un mode d'extraction non encore décrit à notre connaissance et qui nous a donné des résultats satisfaisants.

Technique opératoire. — L'appareil se composait d'uneessoreuse à vitesse réglable, d'un générateur de gaz inerte, d'un serpentín refroidisseur. Le bol de l'essoreuse en cuivre rouge poli était tapissé d'un papier filtre ordinaire et recevait 2 kg. 500 de farine à chaque opération. L'essoreuse elle-même, en fonte grossière et vernie, avait été soigneusement nettoyée au jet de sable et avait reçu par procédé électrolytique une couche de cuivre, puis de nickel, pour éviter toute souillure des matières extraites. Après chargement, l'appareil était mis en marche à blanc, et la farine se répartissait uniformément en un anneau périphérique. Grâce à un ajustage spécial percé de trous à différents étages, on faisait arriver vers le centre du bol un jet d'éther qui imprégnait d'abord la farine et qui, l'essoreuse étant mise en marche, traversait bientôt la couche de matières, solubilisait au passage et entraînait les matières grasses. En même temps, on

faisait arriver un courant d'azote fourni par une bouteille munie d'un mano-détendeur. L'éther chargé de matières grasses traversait ensuite un serpentín vertical, plongé dans la glace, et était recueilli dans des bonbonnes calorifugées sous une atmosphère d'azote. Chaque opération ne durait que quelques minutes, et l'extraction ainsi conduite donnait toute satisfaction par l'épuisement assez poussé de la farine et la séparation des graisses à l'abri de toute oxydation. Un seul inconvénient : le danger d'incendie. Le moteur de la centrifugeuse produisait des étincelles aux balais, qui, au début, enflammèrent régulièrement l'éther. En plaçant à chaque ouverture du moteur des tampons de ouate imbibés de tétrachlorure de carbone, tout danger fut écarté.

Quelques tâtonnements existèrent au début, pour déterminer la quantité de solvant à introduire pour épuiser suffisamment chaque charge nouvelle. Des dosages répétés après chaque opération montrèrent que l'épuisement le plus économique devait se borner à enlever les neuf dixièmes des graisses contenues, l'épuisement total à froid entraînant des frais presque doubles. Dans ces conditions, 100 kilos de farine nécessitent pour leur extraction 74 litres d'éther sulfurique à 65°, dont on récupère nettement au moins un tiers, soit 24 litres. C'est là encore un mauvais rendement de l'appareil, qui aurait pu être amélioré en employant une installation fixe et soigneusement calorifugée. Nos opérations ont lieu au mois d'août, par des températures de 30 degrés, dans un local de fortune exposé constamment au soleil. Ce sont là de mauvaises conditions pour un travail de ce genre. Des dosages de contrôle furent institués pour vérifier si l'extraction était homogène en tous les points de l'anneau de farine de hauteur = 41 centimètres.

Ils ont donné (en % de matières grasses) :

Echantillon moyen, 0,12;

Echantillon bas de l'essoreuse, 0,9;

Echantillon haut de l'essoreuse, 0,13;

Echantillon avant extraction, 1,27.

Choix du solvant. — Le solvant devait répondre à certaines exigences :

- a) assurer une extraction aussi complète que possible des lipides;
- b) entraîner soit par solubilité, soit mécaniquement, le moins possible de substances étrangères (lipoïdes, protides, eau, etc.);
- c) être économique;
- d) permettre d'utiliser ultérieurement la farine dans des essais de panification.

Extraction totale par divers solvants. — Des expériences entreprises avec divers solvants volatils nous donnèrent les chiffres suivants :

TABLEAU III

SOLVANT	EXTRAIT %	POINT D'ÉBULLITION DU SOLVANT
Éther sulfurique.....	1,5	37°
Chloroforme	1,66	61°
Benzine	1,7	80°
Alcool éthylique.....	3,4	80°
Tétrachlorure de carbone....	1,55	73°
Acétone	1,81	56°
Éther de pétrole.....	1,45	30-50°

Ces essais furent faits sur une farine panifiable du commerce, extraction (70-72 %) dans un appareil Soxhlet, contact trois quarts d'heure à partir du premier remplissage.

Extraction par hydrolyses. — Des essais comparatifs d'extraction ont été tentés en Angleterre par C. W. Herd et A. J. Amos ⁽¹²⁾ en utilisant successivement l'éther de pétrole, l'éther, l'alcool, l'hydrolyse alcaline, l'hydrolyse acide.

Le tableau suivant rapporte quelques-uns de leurs résultats :

(12) C. W. HERD, A. J. AMOS, *Fat its estimation in wheaters products*, *Cereal chemistry*, 1930, 7, 251.

TABLEAU IV

Résultats rapportés à la matière sèche.

ÉCHANTILLON	SOXLHET		HYDROLYSE		
	ÉTHER DE PÉTROLE	ÉTHER ÉTHYLIQUE	ALCALIN	ACIDE	ALCOOL (teneur en lipoides)
Farine courante...	—	1,53	1,90	1,98	
Farine première...	1,16	1,20	1,64	1,70	1,99
Son	4,18	4,36	4,34	6,73	4,99
Germe	7,82	8,26	8,80	9,62	10,31

Les auteurs remarquent que les différences entre les résultats obtenus par les trois méthodes doivent être attribuées, en partie au moins, à l'extraction d'une certaine quantité de lipoides, et la matière extraite dans quelques cas n'est pas seulement de la vraie graisse (c'est-à-dire graisse neutre et acide gras), mais un mélange de graisses et de lipoides.

Similairement, la matière extraite par l'hydrolyse alcoolique et regardée comme formée de lipoides est en toute probabilité un mélange de lipoides et de graisses. Afin d'élucider ce point, les auteurs déterminèrent les pourcentages d'azote et de phosphore contenus dans les extraits obtenus par les méthodes considérées. Les résultats suivants sont obtenus :

TABLEAU V

Résultats rapportés à la matière sèche.

ÉCHANTILLON		SOXLHET		HYDROLYSE		
		FIJIER de PÉTROLE	ÉTHER ÉTHYLIQUE	ALCALIN	ACIDE	ALCOOLIQUE
Farine première	N	0,88	0,68	0,78	0,20	1,15
	P	0,30	0,27	1,14	0,21	1,07
Son	N		0,11	0,45	0,19	0,52
	P		0,11	0,48	0,13	0,34
Germe	N		0,08	0,16	0,16	0,43
	P		0,28	0,53	0,19	0,48

De ces chiffres, Herd et Amos notent d'abord que :

a) De plus grandes quantités sont extraites par toutes les méthodes d'hydrolyse; l'hydrolyse acide donne les résultats les plus élevés (voir tableau IV);

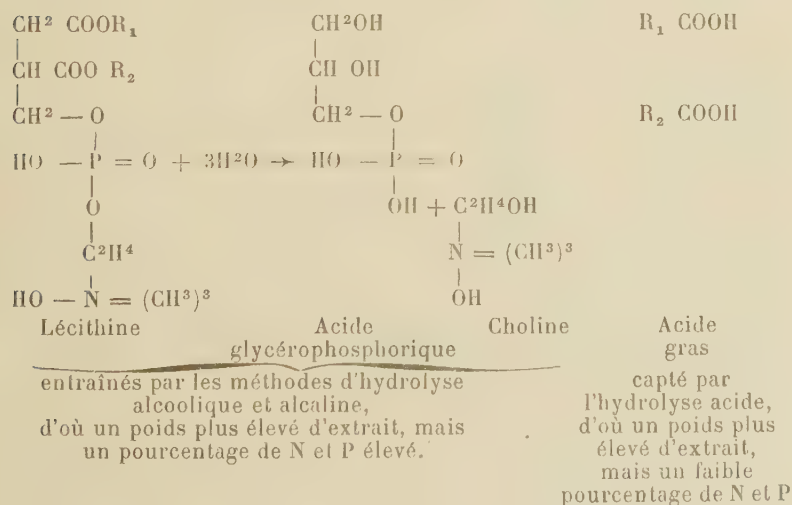
b) Dans les méthodes d'hydrolyse, l'hydrolyse acide livre la graisse la plus pure; les autres échantillons sont souillés de lipoides : présence élevée d'azote et de phosphore.

De l'ensemble des données, deux faits se dégagent enfin :

1° C'est l'hydrolyse acide qui extrait le plus de vraie graisse (c'est-à-dire graisse neutre et acide gras);

2° Cependant, l'extraction à l'éther fournit des graisses sensiblement aussi pures (voir tableau V), mais en quantité moins élevée que l'hydrolyse acide.

D'où l'hypothèse, tirée de la constitution des lipoides, que l'hydrolyse acide disloque la molécule et provoque la séparation des acides gras combinés, qui figurent alors dans le bilan gras, tandis que l'hydrolyse alcaline ou alcoolique ne provoquerait qu'un entraînement de ces lipoides avec une rupture partielle du composé. Les formules suivantes, dans lesquelles R_1 et R_2 représentent des acides gras semblables ou non, aideront à saisir le raisonnement :



En d'autres termes, l'extraction directe à l'éther donne une mesure de la *graisse libre* existant dans le produit. L'hydrolyse acide donne le *total* de la graisse contenue, qui est la graisse libre, plus la graisse combinée et dosée après libération de sa combinaison.

En conséquence, nous n'avons pas retenu les méthodes d'hydrolyse, qui nous apportent autre chose que les seuls *lipides* recherchés.

Extraction à l'alcool. — Par ailleurs, l'extraction à l'alcool altère fortement les qualités du gluten et de la farine. (On sait que Fleurent a fondé une détermination des constituants des protides du froment par solubilisation dans l'alcool à différents degrés de concentration.) L'usage de l'alcool, même concentré, est délicat; l'humidité naturelle de la farine abaisse la concentration du solvant et favorise l'entraînement des matières azotées; enfin, la farine n'est plus panifiable dans des conditions normales. L'alcool ne pourra donc être retenu pour les raisons suivantes :

- a) il entraîne des lipoïdes;
- b) il solubilise des albuminoïdes;
- c) la panification ultérieure est rendue sans intérêt.

Cependant, l'extrait alcoolique a été particulièrement étudié par Sullivan et Near⁽¹³⁾, et comme il comporte une quantité importante de lipoïdes phosphorés (dans la plupart des cas, l'extrait alcoolique a une richesse en phosphore double de l'extrait éthéré) et que ces phosphatides ont une action qui n'est pas négligeable sur la panification, ainsi que nous le verrons en fin de ce travail, nous rapportons brièvement quelques résultats de ces auteurs, qui peuvent être comparés ainsi à ceux de Herd et Amos :

(13) SULLIVAN et CL. NEAR, *Lipoid phosphored of wheat and its distribution*, *Cereal Chemistry*, 1928, 5, 163.

TABLÉAU VI

Analyse d'un blé « Marquis » ou de ses produits de mouture.

	RENDEMENT %	LIPOIDES %	EXTRAIT ÉTHÉRÉ %
Farine 1°	58	1,79	1,15
Farine 2°	12	2,44	1,88
Blé	—	3,02	2,30
Basse farine	2,6	4,39	3,51
Son	13	5,74	4,76
Germe	—	12,04	10,81

Pour utiliser ces chiffres, l'auteur donne :

TABLÉAU VII

NATURE de L'ÉCHANTILLON	PHOSPHORE TOTAL % du produit	PHOSPHORE % DES LIPOIDES (Ex. alcoolique)	PHOSPHORE % (extrait étheré)
Farine 1°	0,0988	0,7079	0,3356
Farine 2°	0,1713	0,5550	0,3038
Blé	0,4182	0,5666	0,2578
Basse farine	0,3479	0,4444	0,2686
Son	1,393	0,4346	0,2534
Germe	1,083	0,3593	0,2839
	PHOSPHORE LIPOIDIQUE % de produit (a)	PHOSPHORE DE L'EXTRAIT éthéré % de produit (b)	PHOSPHORE LIPOIDIQUE Phosphore total
Farine 1°	0,0127	0,0038	0,1280
Farine 2°	0,0136	0,0057	0,0794
Blé	0,0171	0,0059	0,0409
Basse farine	0,0195	0,0094	0,0560
Son	0,0249	0,0121	0,0179
Germe	0,0433	0,0307	0,0400

(a) Les chiffres de cette colonne sont obtenus par le calcul suivant :

$$\frac{\text{Phosphore \% de lipoides} \times \text{\% de lipoides dans les produits}}{100}$$

(b) Les chiffres de cette colonne sont obtenus par le calcul suivant :

$$\frac{\text{Phosphore \% extrait étheré} \times \text{extrait étheré \% de produit}}{100}$$

Note. — Pour les auteurs, le mot lipoïde désigne l'extrait (alcool, éther) du blé et de ses produits de mouture. A côté des phosphatides du type lécithine, il contient des produits comme les stérols dépourvus de phosphore.

Le phosphore total dans les produits de mouture et le phosphore dans l'extrait lipoidique (ou extrait alcoolique), le phosphore dans l'extrait étheré. Il calcule, d'après la teneur en P des lipoides et leur pourcentage dans les produits, ce qu'il nomme le phosphore lipoidique (qui est alors rapporté à 100 de produit); il détermine enfin le rapport $\frac{\text{phosphore lipoidique}}{\text{phosphore total}}$ (% de produit) et constate que ce rapport décroît quand l'extraction croît. En d'autres termes, il faut comprendre (les auteurs n'en disent rien) que les basses farines et les enveloppes sont proportionnellement plus riches en matière phosphorique vraisemblablement minérale qu'en phosphore lipoidique, au contraire des têtes de mouture.

Nous utiliserons ces résultats au moment où nous étudierons l'influence des phosphatides sur la panification. Ayant ainsi éliminé les méthodes d'extraction par l'hydrolyse, l'épuisement à l'alcool, nous avons encore été conduit à ne pas adopter, malgré leur extraction considérable des substances recherchées, les solvants suivants.

Extraction par la benzine. — La benzine, parce que communiquant aux farines une odeur persistante, retrouvée ensuite dans le pain cuit. L'essence d'automobile redistillée fut rejetée pour la même raison.

Extraction par l'acétone. — Nous avons également repoussé l'emploi de l'acétone, que nous ne pouvions nous procurer qu'à un prix élevé. Walde et Mangels ⁽¹⁴⁾ (1930) notent que la farine extraite à l'acétone fournit un pain inférieur en volume et en texture au pain de la farine originale. Nous verrons que l'extraction à l'éther sulfurique n'entraîne pas cet inconvénient.

Extraction par l'éther éthylique. — Pour toutes les rai-

(14) A.-W. WALDE et C.-E. MANGELS, *Variation in proportion of acetone extracts of common and durum wheat flour*, *Cereal chemistry*, 1930, 7, 483.

sons ci-dessus exposées et enfin parce que nos premiers essais (1927) avaient été faits à l'aide de ce solvant, nous avons adopté l'éther sulfurique à 65° pour extraire les farines dont nous avons entrepris l'étude.

Les extraits obtenus ont été conservés, largement dilués par l'éther, à l'obscurité et à la température de 2° C. au moyen d'un frigidaire. Au moment des analyses, nous avons procédé à la récupération du solvant par distillation à une température maxima de 40° dans le vide d'une bonne trompe et dans un lent courant d'azote. Toutes précautions prises pour éviter une oxydation éventuelle, soit des corps gras non saturés, soit des pigments colorés fragiles (carotène par exemple).

Nos essais ont porté d'abord sur la détermination de divers indices des huiles. Nous les rapporterons dans les tableaux suivants en même temps que ceux des différents auteurs qui se sont occupés de cette question. Les chiffres trouvés sont très voisins dans tous les cas, et il ne paraît pas y avoir pour l'instant de bien importantes conclusions à tirer.

Déterminations chimiques (indices) des huiles de germe et de farine de froment.

Lewkowitch ⁽¹⁵⁾ distingue l'huile de blé tirée du germe et l'huile de farine de froment. Il classe la première, à laquelle il attribue un indice d'iode de 115,4, parmi les huiles demi-siccatives, et la deuxième, avec un indice d'iode de 96,4 à 112,5, parmi les huiles non siccatives. Remarquons que si l'on chauffe assez longtemps au bain-marie l'huile de farine soumise à un barbotage d'air, elle se prend en masse et l'on peut retourner le récipient qui la contient, ce qui n'arrive pas avec les huiles non siccatives. Cependant,

(15) LEWKOWITCH, 1909, **2**, 826; LEWKOWITCH, *Huiles, graisses, cires*. Trad. Bontoux, Dunod, édit., Paris, 1929, **1**, 577-578.

(16) BALL, *A study of wheat oil*, *Cereal chemistry*, 1927, 3-4, 23.

Ball ⁽¹⁶⁾, citant une expérience de Francforter et Harding ⁽¹⁷⁾, dit que dans une expérience qui dura soixante-quinze jours l'huile de blé acquit en quarante-cinq jours 0 g. 42 et reperdit ensuite ce poids, tandis qu'une même quantité d'huile de lin s'accrut dans le même temps de 8 g. 43.

Les chiffres que nous rapportons dans les tableaux suivants établissent des différences qui peuvent provenir de variations réelles de constitution : des huiles de l'endosperme, du germe et des enveloppes; mais aussi du fait même de la mouture. Celle-ci, bien qu'étant l'opération progressive et minutieusement réglée que nous avons décrite précédemment, provoque des mélanges et une répartition plus ou moins homogène. Pour étudier cette possible répartition, nous avons choisi parmi les caractéristiques des extraits l'indice d'iode (qui permet une classification assez exacte des huiles) et nous avons procédé à sa détermination sur les extraits des farines de différents passages d'une même mouture de blé du pays.

TABLEAU VIII

PASSAGES	EXTRAIT % DE FARINE	INDICE D'IODE	PASSAGES	EXTRAIT % DE FARINE	INDICE D'IODE
1° Convertisseur	1,07	107,6	1° Convertisseur	0,9	103,1
3° —	1,06	107,5	5° —	1,5	107,5
6° —	1,60	118,5	7° —	1,95	118,7
7° —	2,11	120,9	Farine entière	1,12	109,4
9° —	3,00	122,7	Germes (3) ..	9,00	125,9
13° —	3,02	122,7			
14° —	3,43	122,8			
15° —	4,187	123,3			

huiles de 1928 (1)		huiles de 1932 (2)
(1) Blés exotiques, 70 % ; de pays, 30 %.		
(2) Blés exotiques, 10 % ; de pays, 90 %.		
(3) Germes industriels, souillés de farine.		

Les chiffres du tableau VIII montrent que les corps gras non saturés vont en croissant dans le même sens que le taux d'extraction de la farine.

(17) FRANCORTER and HARDING, *A chemical study of wheat*, Journ. Ann. chem. Soc., 1899, 21, 758.

Certains auteurs ont proposé une technique pour déterminer directement l'indice d'iode de la farine (a).

Les chiffres rapportés au tableau IX montrent que l'on obtient dans cette opération des résultats en contradiction avec la détermination directe sur l'huile.

L'huile de germe et de l'assise protéique est plus riche en composés non saturés que l'huile de l'endosperme. Celle-ci ne peut être isolée à l'état de pureté et la composition chimique de l'huile de farine de froment ne sera jamais que relative. Parmi les influences qui peuvent agir sur cette composition, les plus connues sont :

a) *Procédé de mouture* (cylindres ou meules). — Les meules donnent des extraits plus homogènes, plus riches en produits venant du germe et de l'assise protéique, car la mouture est plus brutale et moins graduée.

(a) INDICE D'IODE DES FARINES :

Pour déterminer cet indice on se sert :

- A. Solution d'iode : iode bisublimé 25 grammes dans 500 cc. d'alcool à 95°.
- B. Solution de bichlorure de mercure : bichlorure de mercure, 30 grammes dans 500 cc. d'alcool à 95°.
- C. Solution titrée d'hyposulfite de soude : à 24 g. 8 par litre (N).

10

Une solution d'iodure de potassium à 10 % et une solution d'amidon à 2 %.

On pèse dans une fiole conique bouchée à l'émeri, propre et sèche, 10 grammes de farine. On ajoute 50 cc. de chloroforme pur, on agite fréquemment. On filtre après 2 heures de contact dans une autre fiole conique fermant à l'émeri de 300 cc. On lave soigneusement le filtre avec 10 cc. environ de chloroforme. On ajoute 10 cc. de A, puis 10 cc. de B, on laisse en contact pendant deux heures en agitant fréquemment.

Après un contact de deux heures, on titre l'excès d'iode dans la fiole même on ajoute 20 cc. d'iodure de potassium et 100 cc. d'eau distillée; on verse ensuite la solution titrée d'hyposulfite en faisant des touches avec l'empois d'amidon jusqu'à disparition de l'iode.

On titre la solution iodo-mercurelle en présence de chloroforme, comme s'il s'agissait de faire l'indice d'une farine.

On obtient par différence la quantité d'iode absorbée, qui est rapportée à 1.000 grammes de farine et qui est l'indice d'iode.

TABLEAU IX.

NATURE de la FARINE	HUMIDITÉ %	Ces D'HYPO. NÉCESSAIRE au dosage	INDICE D'IODE % DE FARINE		ACIDITÉ % DE FARINE		MATIÈRES GRASSES % DE FARINE		INDICE d'IODE % DE CORPS gras calculé de l'indice de farine
			fraîche	sèche	fraîche	sèche	fraîche	sèche	
1 ^o Convertisseur ..	14,53	9,7	4,3	4,52	0,018	0,024	0,88	4,02	447
2 ^o —	14,77	9,55	4,28	4,50	0,024	0,028	0,94	4,10	
3 ^o —	14,52	9,4	4,26	4,47	0,024	0,028	0,93	4,08	435
4 ^o f.	14,68	10,5	4,41	4,65	0,030	0,035	1,13	4,32	
4 ^o g.	14,28	—	—	—	0,030	0,034	1,44	4,64	
5 ^o —	14,74	11,5	4,54	4,80	0,036	0,042	1,24	4,45	
6 ^o —	14,12	12,4	4,66	4,93	0,042	0,048	1,41	4,64	
7 ^o —	14,40	18,0	2,44	2,81	0,042	0,049	1,90	2,24	
8 ^o —	14,03	16,6	2,22	2,58	0,042	0,048	1,80	2,09	426
9 ^o —	43,97	24,6	2,90	3,37	0,048	0,055	2,43	2,82	
10 ^o —	14,28	18,3	2,45	2,85	0,034	0,062	1,93	2,25	419
11 ^o —	14,29	24,2	3,24	3,78	0,066	0,077	2,70	3,15	
12 ^o f.	13,24	20,3	2,72	3,13	0,066	0,076	2,32	2,67	
12 ^o g.	13,46	20,2	2,74	3,43	0,072	0,082	2,24	2,58	
13 ^o —	13,43	23,5	3,15	3,63	0,084	0,097	2,64	3,05	
14 ^o —	13,12	23,7	3,17	3,64	0,096	0,110	2,83	3,23	
15 ^o —	12,33	28,3	3,8	4,33	0,108	0,123	3,17	3,61	419

Mélange { Manitoba V ... 50 %
 Maroc 20 %
 Blé de Vendée. 30 %

b) *Humidité initiale du blé.* — Les blés secs se pulvérisent plus complètement que les blés humides et leurs farines sont souillées de nombreux débris périphériques, qui provoquent un enrichissement en extractif.

c) *La qualité des blés* (durs ou tendres) agit dans le sens précédent.

d) *Le taux de blutage* de la farine et le mélange, plus ou moins parfait, plus ou moins complet des divers produits de mouture.

Il conviendra de tenir compte de ces remarques dans l'appréciation des résultats rapportés dans le tableau X, où nous avons groupé les chiffres obtenus par différents auteurs et nos propres déterminations. C'est ainsi que l'indice de saponification de Plucker 182-8 doit se rapporter à une farine de faible taux de blutage. En effet, nous avons obtenu pour une farine qui groupe, sous la dénomination commerciale de farine deuxième, les produits venant des treizième, quatorzième et quinzième convertisseurs, un indice de 183. De même un passage contenant une forte proportion de germes (neuvième convertisseur) donne le même indice de 183. Au contraire, une farine provenant de l'amande farineuse, et de la même mouture, nous a donné un indice de Köttsorfer de 168 (premier convertisseur). D'une manière générale, toute analyse de farine devrait contenir des indications sur le mélange des blés et le degré d'extraction de la farine. Ce n'est pas toujours possible.

Dans nos essais, nous avons adopté le manuel opératoire décrit par Halphen⁽¹⁵⁾, sauf pour l'indice d'iode, pour lequel nous avons procédé suivant la technique de Hanus, qui utilise le bromure d'iode.

(15) HALPHEN, *Analyse des matières grasses*, Paris, Gauthier-Villars et Masson, édit.

FARINE								
	GERME							
	Ball	De Negri (1)	Alpers (2)	Détermi- nations person- nelles	Ball	Plucker (3)	Spaeth (4)	Détermi- nations person- nelles
Densité	(45°) 0,92483	(45°) 0,9243	(25°) 0,9320	—	—	—	(45°) 0,9068	—
Indice de Réfraction	1,4686	1,4750	1,4766	1,4750	1,4714	—	(25°) 1,4831	1,4850
Ind. de Saponification (acides totaux)	184,13	182,8	180,0	183,0	160,86	182,8	166,5	168,4 (arr. 1°) 172 ar est
Ind. de Hübl (acides non saturés)	123,6	115,1	122,6	123,9	105,43	96,1 à 112,5	101,5	183,4 (arr. 9-6)
Ind. de Henher (acides fixes)	93,71	95,31	95,18	—	—	—	—	—
Ind. de Reichert-Heissl (acid. volatils)	0,47	—	0,75	—	—	2,95 à 4,95	—	—
Ind. de d° Wolny	—	—	—	2,7	—	—	—	0,77
Ind. de Planchon (acides solub. dans H ² O)	—	—	—	0,413	—	—	—	—
a) Acides libres % de :								
corps gras (farine fraîche)	—	3,63	—	5,13	—	—	—	2
corps gras (après 2 mois)	3,51	—	—	16,0	—	—	—	8
Insaponifiable	3,66	—	—	3,4 (blés. excl.)	2,51	—	2,8	4,98 blé fr. 2,15
Indice d'acide (huile fraîche)	24,48	—	—	10,6	—	—	—	2,51 blé ex.
d° (après 2 mois)	—	—	—	34,9	—	—	—	7,9
d° (après 3 ans)	34,94	—	—	—	—	—	—	15,9
Indice d'éther	162,65	—	—	172,4	—	—	—	164,1
<i>a)</i> Acides libres exprimés en acides oléiques. <i>b)</i> Mélange de blé (Manitoba V, 50 %; Maroc, 20 %; Blé de Ven- dée, 30 %). <i>(1)</i> DE NEGRI. — Journ. Soc. Chem. Ind. 1898, 1135. <i>(2)</i> ALPERS. — Chem. Zeit., 1918, 42, 37. <i>(3)</i> PLUCKER. — Zeit. f. Untere d. Nahrung u Genussm. 1907, 14, 754. <i>(4)</i> SPAETH. — Analyst 1896, 234, d'après Lewkowitsch, 1909, 2, 826.								

a) Acides libres exprimés en acides oléiques.
 b) Mélange de blé (Manitoba V, 50 %; Maroc, 50 %; Blé de Ven-
 dée, 30 %).
 (4) De Negri. — Journ. Soc. Chem. Ind. 1898, 4153.
 (2) Alpers. — Chem. Zeit., 1908, 42, 37.
 (3) Plucker. — Zeit. f. Unters. d. Nahrungsm. 1907, 14, 731.
 (4) Spaeth. — Analyst 1896, 234, d'après Lewkowitsch, 1909, 2, 826.

A titre de comparaison, nous groupons dans le tableau XI quelques résultats obtenus par différents opérateurs sur les huiles de graminées :

Composition de l'huile de froment. — On sait peu de choses sur la composition chimique exacte de l'huile de blé et des huiles de graminées. Power et Salway ⁽¹⁶⁾ étudièrent les aci-

TABEAU XI

	Avoine graine Paul (1)	Seigle			Orge	
		farine	grain	germe	farine	grain
		Spaeth (2)	Alpers (3)		Spaeth	Wallerstein (4)
	(15°)	(15°)			(15°)	
Densité	0,923	0,8769	0,9322	0,9334	0,9765	
Indice de réfraction....	1,4701	1,4763	1,4772	—	1,4771	
Indice de saponification	189,8	172,8	174,3	196	164,7	182,1
Indice d'iode.....	114,2	118,5	127,7	81,8	48,2	114,1
Indice Reichert-Meissl.	—	0,88	0,33	—	0,8	0,031
Insaponifiable %.....	1,13	—	—	7,28	—	4,7
Acides libres.....	34,70	—	—	(H. A. Schætte)	—	16,52
Poids des acides gras..	284,8	—	—	(5)	—	284,7

(1) E. PAUL, *A note on the oil of oats*, *Analyst.*, 1921, **46**, 238.
(2) E. SPAETH *Zur Untersuchung und Unterscheidung von Mehlsorten* *Z. Angew chem.*, 1894, **294**.
(3) E. ALPERS, *Ueber den Lecithingehalt der Keime und Keimöle des Roggens, Weizens und Mais* *Chem. Zeit.*, 1918, **42**, 37.
(4) WALLERSTEIN, 1897. *Ahs in chem. cent.*, part. 1, p. 63.
(5) H. A. SCHÆTTE, *Huile de germe de seigle*. *J. Ann. Chem. Soc.*, 1932, **54** (8), 3298.

des gras de l'huile de blé. Ceux-ci furent séparés par la méthode des sels de plomb, et les acides solides convertis en leurs éthers méthyliques furent distillés à 193°-196° sous 15 millimètres de pression. Ils ont une valeur de neutralisation de 205, et l'on peut séparer des acides fondant à 63°-64°. Ils concluent à l'existence de l'acide palmitique et stéarique en égale proportion.

Nous avons pu séparer d'une huile de farine, sous l'influence d'un froid de — 5° maintenu pendant plusieurs jours,

(16) POWER et SALWAY, *Chemical examination of the wheat germ*, *Pharm. Journ.*, 1913, **91**, 117.

un corps gras qui, séparé par lavages, filtrations, cristallisations fractionnées, fondit à 62°5 et dont l'indice de neutralisation et le poids moléculaire calculé coïncidèrent avec ceux de l'acide palmitique. L'huile expérimentée avait une acidité initiale de 16 % en acide oléique.

Power et Salway virent pratiquement distiller à 245° sous 25 mm. de pression les acides liquides : leur indice de neutralisation égalait 200,4, leur indice d'iode 167. De ces chiffres les auteurs concluent que les acides liquides sont principalement de l'acide linoléique (bien que l'indice d'iode théorique soit de 181).

Schuette⁽¹⁷⁾, étudiant l'huile de germe de seigle, rapporte les résultats suivants :

Myristine.....	2 33 p. 100
Palmétine.....	8 11 »
Stéarine.....	0 18 »
Oléine.. ..	31 92 »
Linéoléine.....	44 05 »
Linoléine.....	4 99 »
Insaponifiable.....	7 28 »
Total.....	98 86 p. 100

Nous n'avons pu nous procurer le texte du mémoire original, et nous relatons ces résultats d'après *Chimie et Industrie*. Une telle recherche réclame une quantité de matière première qu'à aucun moment nous n'aurions pu obtenir. E. André⁽¹⁸⁾ en montre toute la difficulté. « Il n'est pas de travail plus décevant que celui que doit s'imposer le chimiste dans une semblable étude. Les caractères de pureté considérés comme les plus certains, le point de fusion par exemple, perdent une partie de leur valeur parce que la plu-

(17) H.-A. SCHUETTE, *Huile de germe de seigle*, *Chimie, Industrie*, 1933, 29, (3), 650, et *Journ. Ann. chem. Soc.*, 1932, 54, (8), 3298.

(18) E. ANDRÉ, *La chimie des corps gras; son état actuel*, Extrait du *Bulletin de la Société de Chimie de France*, Masson, édit., Paris, 1922.

part des glycérides présentent la singulière propriété appelée double point de fusion...

» L'analyse élémentaire elle-même ne permet pas d'identifier les glycérides que l'on a réussi à isoler. »

Enfin, un tel travail n'entrerait pas dans le cadre que nous nous sommes tracé : l'étude de quelques substances de l'insaponifiable en vue d'application physiologique.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE PHYSIOLOGIQUE DE L'EXTRAIT ETHERE DES FARINES DE FROMENT

De la nature des pigments colorés de la farine.

Si l'on examine des extraits étherés des différents passages de la mouture et choisis par ordre d'extraction croissante, on remarque immédiatement que la couleur de ces extraits varie d'un échantillon à l'autre. Jaune serin pour les premiers passages, elle vire bientôt au jaune verdâtre, puis au vert brunâtre pour la dernière liqueur. La couleur de l'extrait de la farine panifiable participe de celle des composants de cette farine, plus ou moins claire, plus ou moins verdâtre suivant l'extraction; elle réunit les qualités des différents pigments qui provoquent la couleur de ces extraits.

Mesures colorimétriques.

Quelques chimistes anglais et américains ont étudié la nature du colorant et fait le dosage colorimétrique des extraits de farine. En 1905 J. H. Schepard⁽¹⁹⁾ utilisa dans ses comparaisons les filtres de Lovibond et Jago⁽²⁰⁾, en 1914 le *teintomètre* du même auteur. Mais Schertz (1923)⁽²¹⁾, travaillant sur des solutions de carotène pur et employant les écrans de Lovibond avec un colorimètre de Duboscq, montra que l'on ne pouvait attendre aucun résultat précis.

(19) J. H. SHEPARD, *Macaroni wheat. Its milling and chemical characteristics and its adaptation for making bread and macaroni*, 1905, So. Dak. Agr. Expt. Sta. Bull., 92.

Le grand souci de tous ces opérateurs a été de préparer une solution colorée stable pouvant être comparée utilement aux extraits de farine. Winton (1911)⁽²²⁾ opérait avec une solution de 0,005 % de chromate de potasse et trouva entre deux blés, l'un tendre, l'autre dur, des différences de coloration du simple au double. Monier-Williams (1912)⁽²³⁾ conclut que la majeure partie des pigments présents était composée de carotène. Il fixa, aux farines examinées, une teneur de 1,3 à 2 pour 1.000.000 en ce carbure.

Dans l'estimation quantitative du carotène par un procédé colorimétrique, Willstatter et Stoll (1913)⁽²⁴⁾ employèrent une solution de 0,25 % d'alizarine dans le chloroforme ou 0,2 % de bichromate de potasse dans l'eau, comme liqueurs étalons. En employant des solutions de carotène de 5×10^{-5} molécules, soit 0,0268 %, ils trouvèrent :

100 mm. solution de carotène = 101 mm. solution de $\text{Cr}^{207}\text{K}^2$					
50	»	»	=	41	»
25	»	»	=	19	»

Cependant, Palmer (1922)⁽²⁵⁾, après avoir passé en revue les différentes méthodes colorimétriques et pratiqué des essais personnels, déclare que les meilleurs résultats seront obtenus par la moyenne des lectures à 100, à 50 et 25 mm., et prenant comme étalon des *solutions de carotène pur*. Il est à

(20) W. JAGO, *The technologie of bread making*, 1911, Baker's Helper Co, Chicago.

(21) F. H. SCHERTZ, *The quantitative determination of carotin by means of the spectrophotomètre and the colorimètre*, J. Agr. Research, 1923, 26, 383.

(22) A. L. WINTON, *Colour of flours and a method for the determination of the « Gasoline color value »*, U. S. Dept. Agr. Bur. Chem. Bull., 1911, 137, 144.

(23) G. W. MONIER-WILLIAMS, *Report to the local governement board on the nature of the coloring matter of flour and its relation to the processes of natural and artificial bleaching*. Repts. Local Govt Bd. (Great Brit.) Pub. Health and Med. Subjs. N. Jer, 1912, n° 73, 10 p.

(24) WILLSTATTER et A. STOLL, *Untersunchungen über chlorophyll Methoden und Ergehuisse*, 1913, Berlin, p. 224-246.

(25) L. S. PALMER, *The carotinoids and related pigments*, Chem. Cat. Co, New-York, 1922, p. 254.

remarquer que Arnaud (1887)⁽²⁶⁾ avait déjà utilisé dans ses recherches sur « *la carotine* » des solutions pures comme liqueurs de comparaison. Malgré ce conseil autorisé, les différents auteurs continuent à rechercher les meilleures solutions étalons, et des discussions passionnées éclatent entre eux sur le choix et la préparation de ces solutions, ainsi que sur le colorimètre le plus efficace, bien que, ainsi que le remarquent E. Canals et E. Cabannes⁽²⁷⁾, « la loi de Beer-Lambert, qui règle les estimations colorimétriques », ne soit rigoureuse que si la lumière incidente est monochromatique et de même longueur d'onde pour les deux solutions examinées. Cependant, elle peut être généralisée par approximation à une lumière polychromatique (lumière blanche), à condition que les deux lumières émergentes soient amenées à avoir la même composition spectrale, ce qui exige qu'on ne compare entre elles que *deux solutions de la même matière colorante*. Le principe du colorimètre doit donc s'énoncer de la façon suivante :

Lorsque deux solutions d'une même matière colorante, dans un même dissolvant, examinées par transmission à une même lumière incidente, ont même intensité de coloration ou égalité de teinte, les épaisseurs de liquide traversées par la lumière sont inversement proportionnelles aux concentrations respectives des deux solutions.

Pour n'avoir pas tenu compte de ces conditions, les travaux de Kent-Jones et Herd (1927)⁽²⁸⁾ prêtent déjà à la critique. Ils utilisent 10 cc. d'une solution de 0,5 % de bichromate de potasse, mélangée à 1 cc. 5 de nitrate anhydre de cobalt à 10 % dans 100 cc. d'eau distillée. Les comparaisons sont faites à l'aide du colorimètre de Kent-Jones. Bien

(26) A. ARNAUD, *Dosage de la carotine contenue dans les feuilles des végétaux*, C. R. de l'Acad. des sciences, 1887, 104, 1293.

(27) E. CANALS et E. CABANNES, *A propos des essais colorimétriques*, Bulletin de la Société de chimie biologique, 1932, 14, (2), 241; E. CABANNES, thèse de doctorat en pharmacie, Montpellier, 1931.

(28) J. W. HENT-JONES et C. W. HERD, *Anumerical expression for the colour of flour*, Analyst., 1927, 52, 443.

plus, Visser't Hooft et de Leeuw (1928)⁽²⁹⁾ montrèrent que la teinte des solutions employées varie avec le pH. Enfin, le colorimètre de Kent-Jones donne des résultats irréguliers et non comparables à ceux obtenus, par exemple, avec le colorimètre de Duboscq.

De la critique de ces travaux, une impression se dégage : les solutions étalons de comparaison ne conviennent pas au dosage des pigments colorés des extraits de farine ; la détermination colorimétrique réclame des conditions bien précises et délicates, qui n'ont pas été observées. Le colorimètre est-il lui-même l'instrument désigné pour une telle étude ? Le travail de Schertz (1923)⁽³⁰⁾ paraît devoir encore obscurcir la question : comparant des deux côtés du colorimètre de Duboscq des solutions de carotène, de même concentration, il trouva des différences de 33 %. Aussi Bailey (1929)⁽³¹⁾ est-il autorisé à s'écrier : « Si les solutions de carotène sont si difficiles à comparer quand les deux tubes du colorimètre contiennent la substance pure, combien la situation devient plus délicate quand on emploie un étalon quelquefois de teinte non satisfaisante. »

Mesures spectrophotométriques.

Délaissant les étalons approximatifs de leurs devanciers, ainsi que les dosages colorimétriques, Ferrari et Bailey eurent recours à la méthode spectrophotométrique. Ces auteurs opèrent dans la lumière donnée par une lampe à vapeur de Hg dans la zone de la raie 4.358 Å à l'aide d'un spectrophotomètre de Keuffel et Esser⁽³²⁾. Les liquides à comparer sont

(29) F. VISSER'T HOOFT et J. G. DE LEEUW, *A critical study of some methods used in flour colorimetry*, *Cereal chemistry*, 1928, 5, 351.

(30) SCHERTZ, *loc. cit.*

(31) C. G. FERRARI et C. H. BAILEY, *Carotinoid pigments of flour*, *Cereal chemistry*, 1929, 6, 222.

(32) C. W. KEUFFEL, *The K. E. color analyses*, *J. oil and Fat., Ind.*, 1923, 2, 14, et aussi : *A direct reading spectrophotometer*, *J. Optical Soc. Amer.*, 1923, 11, 403.

placés l'un au-dessus de l'autre dans le champ de l'appareil et identiquement éclairés. Ils sont contenus dans deux tubes, dont l'un reçoit le solvant et l'autre le solvant plus le corps dissous à étudier.

La valeur de l'intensité lumineuse transmise par un milieu qui absorbe la lumière est donnée par la relation (loi de Lambert) :

$$I = I_0 \cdot 10^{-\Sigma d} \quad (1)$$

où :

I_0 est l'intensité *avant* l'entrée dans le liquide absorbant;

I , l'intensité de la lumière transmise;

Σ , le coefficient d'extinction;

d , l'épaisseur du liquide.

Il est plus commode d'appliquer la formule sous la forme suivante :

$$10^{\Sigma d} = \frac{I_0}{I}$$

d'où l'on tire en prenant les logarithmes :

$$\Sigma = \frac{1}{d} \log \frac{I_0}{I} \quad (2)$$

d étant connu, la mesure du coefficient d'extinction revient à la mesure de $\frac{I_0}{I}$, la connaissance de la valeur absolue de

I_0 et de I n'est pas nécessaire, seul le rapport est utile. Sa valeur sera obtenue de la manière suivante. Si l'on interpose, dans le trajet lumineux qui doit traverser la cellule contenant le solvant, un disque à secteur tournant, d'ouverture réglable, mû par un moteur, on abaisse l'intensité lumineuse, d'une grandeur déterminée à volonté. On peut arriver ainsi à l'égalité des intensités lumineuses entre le solvant et la solution. Le rapport $\frac{I_0}{I}$ est alors aisé à con-

naître : il sera égal, en supposant la portion du secteur = 36° :

a $\frac{360}{36}$ par exemple, et $\frac{I_0}{I} = 10$, d'où $\log. \frac{I_0}{I} = 1$, et en prenant, c'est le cas des expériences de Ferrari et Bailey, $d = 10$ cm., la relation

$$(2) \quad \Sigma = \frac{1}{d} \log \frac{I_0}{I}$$

$$\Sigma = \frac{1}{10} \cdot 1 = 0,1$$

Or, l'équation de Beer relie l'intensité de la lumière transmise à celle de la lumière incidente en fonction de la concentration de la couche absorbante par une formule analogue à la précédente. Leur conjugaison nous donne en définitive la relation :

$$\Sigma dc = \log \frac{I_0}{I}$$

$$\text{d'où } c = \frac{\log \frac{I_0}{I}}{\Sigma d}$$

Schertz, ayant mesuré par cette méthode les absorptions de solutions pures de carotène, a donné des courbes de correspondance entre cette absorption et la concentration des solutions. Ferrari et Bailey comparèrent les extraits de farine à ces courbes pour en obtenir la teneur en carotène. Dans ce but, ils étaient obligés de formuler l'hypothèse que le colorant de ces extraits était essentiellement le carotène. Ils se fondèrent sur les travaux de Monier-Williams, déjà rapportés, et enfin comparèrent leurs extraits dans *l'éther de pétrole* à des solutions de carotène pur, par eux préparé. Leur opinion paraît devoir être critiquée, tout au moins au point de vue qualitatif. Il suffit, en effet, de jeter un regard sur les spectrogrammes qu'ils rapportent (Nous regrettons de ne pouvoir les présenter ici, mais leurs clichés déjà faibles ne pouvaient supporter une nouvelle reproduction) pour remarquer que le spectre du carotène s'étend, dans les conditions de leur expérience, de 3.600 Å environ jusqu'à plus

de 5.800 Å°, dernière limite de leur échelle, présentant vers 4.500 Å° et 4.800 Å° les bandes caractéristiques de ce corps. Or, l'extrait de farine supposé de même concentration, 68 mmg. 0/00), par comparaison, spectrophotométrique comme indiqué plus haut, présente une absorption totale à 4.450 Å°. Il est évident que s'il y a du carotène ce pigment n'est pas le seul colorant présent.

En même temps, nous remarquons, et les auteurs le notent, que les bandes d'absorption situées vers 4.800 Å° et vers 4.500 Å° subissent un léger décalage sur les petites longueurs d'onde dans le cas des extraits de farine. C'est précisément là un caractère de la xanthophylle [voir la planche I que nous rapportons d'après l'ouvrage de Willstätter et Stoll⁽³³⁾]. Or Palmer⁽³⁴⁾ indique comme caractéristique du spectre du carotène dissous dans l'alcool ou l'éther de pétrole que la ligne F du spectre solaire divise la première bande de ce spectre exactement en deux parties. Il ajoute : « Cette caractéristique de la première bande du carotène peut servir à identifier son spectre parmi celui des autres carotinoides. »

La ligne F du spectre solaire passe vers 485 mμ. Si nous prenons la moyenne des limites indiquées par Willstätter et Stoll pour la première bande du carotène (bande I = 492 — 478), nous obtenons 485 mμ, ainsi que l'indique Palmer. Or Ferrari et Bailey donnent pour la première bande du spectre des extraits de farine les chiffres 488-467, dont la moyenne est 477 mμ, largement décalée par rapport à F.

Palmer, cité par C. H. Bailey⁽³⁵⁾, constate que, dans un échantillon de son de blé, la xanthophylle constituait la principale fraction et le carotène la plus petite fraction du pigment jaune. Mais Ferrari et Bailey⁽³⁶⁾, s'appuyant sur la

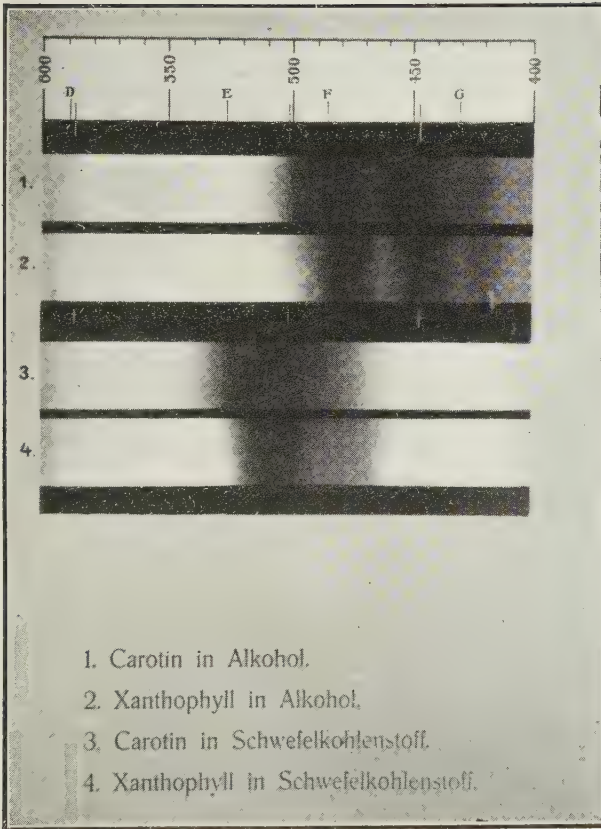
(33) WILLSTÄTTER and STOLL, *loc. cit.*

(34) PALMER, *Carotinoides and related pigments*, Chem. Cat. Co, New-York, 1922, p. 221.

(35) C. H. BAILEY, *The chemistry of wheat flour*, Chem. Cat. Co, New-York, 1925, p. 198.

(36) FERRARI et BAILEY, *loc. cit.*, p. 237.

PLANCHE I



presque insolubilité de la xanthophylle dans l'éther de pétrole, déclarent qu'il n'est pas vraisemblable que ce pigment soit celui du son. Cette opinion, fondée sur la solubilité de la xanthophylle, ne doit pas être retenue si l'on remarque avec Palmer ⁽³⁷⁾ que si la xanthophylle *cristallisée* est presque insoluble dans l'éther de pétrole, elle est au contraire, à l'état *amorphe* ou en mélange avec des lipoïdes, ce qui est le cas présent, parfaitement soluble dans ce solvant. Ferrari et Bailey notent ensuite que les dosages spectrophotométriques du carotène et de la xanthophylle donnent peu de différence par suite de l'absorption très voisine de ces corps. Au point de vue de l'étude de la couleur de la farine ou de ses extraits, cette remarque est justifiée; elle ne l'est pas si on cherche à connaître la véritable nature des pigments colorés présents dans la farine.

Etude spectroscopique des pigments.

Cette étude ayant acquis récemment, ainsi que nous l'exposons plus loin, un immense intérêt physiologique, nous avons entrepris l'examen des pigments de la farine : qualitativement, à l'aide d'un spectrographe Zeiss à réseau pour le visible et optique de quartz et prisme de Cornu pour l'invisible; quantitativement, avec le photomètre¹ graduel de Pulfrich, construit par Zeiss. Ces appareils avaient été mis à notre disposition par le docteur Sellier, professeur d'hydrologie à la Faculté mixte de médecine et de pharmacie de Bordeaux. Nous le prions de trouver ici nos sincères remerciements. Mais la retraite de ce professeur nous força à interrompre ces recherches. Grâce à M. Mercier, professeur de physique à la Faculté des sciences de Bordeaux, auquel nous exprimons notre vive reconnaissance, nous avons pu montrer que la coloration des extraits de farine et, partant,

(37) PALMER, *loc. cit.*, p. 223.

de la farine, ne participe pas du seul *carotène* ou même du carotène et de la *xanthophylle* réunis.

Technique opératoire. — L'appareil dont nous avons pu enfin disposer est un spectroscope de Hilger à déviation constante, malheureusement sans optique de quartz et sans chambre photographique. Nous avons dû nous borner à une étude sommaire dans le visible. L'instrument était fréquemment étalonné sur la raie D du sodium. Le système d'éclairage par arc au charbon, courant continu, était maintenu à une valeur aussi fixe que possible. Tous les essais furent faits dans une cuve à faces parallèles, sous une épaisseur de 48 mm. La première colonne du tableau XII porte sous le nom de concentration la teneur en grammes d'extrait pour 1 litre de solvant (celui-ci est l'éther éthylique).

Les chiffres en italique indiquent des raies de faible intensité; au contraire, les chiffres en caractères gras caractérisent les très fortes absorptions. Les essais ont porté sur les diverses farines d'une même mouture, provenant, ainsi que nous l'avons déjà expliqué, de différentes assises du grain de blé. Si l'on compare les résultats obtenus aux spectres de la chlorophylle donnés par Willstätter et Stoll⁽³⁸⁾, et que nous rapportons planche II, il est aisé de voir que les extraits de farine contiennent de la chlorophylle, particulièrement la *chlorophylle a*. Cette substance augmente à mesure que les farines se rapprochent de la périphérie et de nouvelles bandes caractéristiques de ce corps apparaissent dans les extraits des basses farines. Le passage (9° C) contenant de l'huile provenant du germe est aussi riche en chlorophylle. Au contraire, les farines de tête pourraient en être dépourvues si le jeu de la mouture ne leur incorporait pas mécaniquement les lipides colorés venant d'autres assises du grain. Cependant, elles absorbent les rayons de petites longueurs d'onde plus que les basses farines et paraissent ainsi plus jaunes

(38) WILLSTATTER et STOLL, *loc. cit.*

PLANCHE II

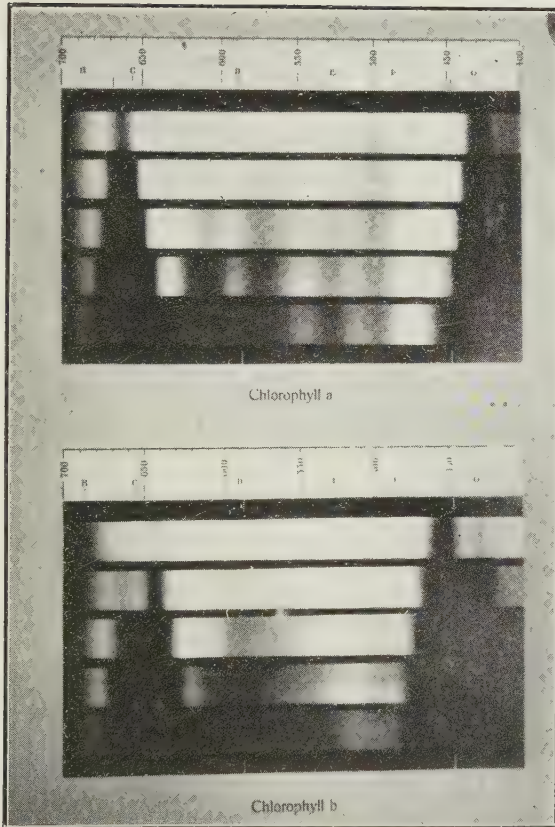


TABLEAU XII

FARINE	CONCENTRA- TION	EXTINCTION TOTALE	1 ^{re} BANDE	2 ^e BANDE	3 BANDE	EXTINCTION TOTALE	
1 ^o C.....	180	728	675-661	—	—	437	Extraits
3 ^o C.....	186	728	675-662	—	—	437	—
7 ^o C.....	384	729	679-683	—	—	344	Farine
9 ^o C.....	323	731	680-683	610	533	343	de blés
13 ^o C.....	380	727	684-643	613-600	533	317	exotiques
14 ^o C.....	333	727	683-643	618-600	540	Extinction	
15 ^o C.....	443	727	685-645	618-600	541	totale	
4 ^o C.....	—	713	677-660	—	535	—	
9 ^o C.....	—	—	683-639	610	538	—	
Farine panifiable (72 %)	—	723	670-641	—	532	—	Huiles
9 ^o C. (1928)	—	720	682-649	610	536	Extinction	
						totale	
1 ^o C.....	33	735	—	—	—	497	Extraits
3 ^o C.....	78	713	669	—	—	344	—
Farine panifiable 1932	92	728	672-658	—	—	343	Farine
Farine panifiable 1933	472	723	670-648	—	—	342	de blés
Germes	202	715	672-638	—	—	317	indigènes

que celles-ci. Les farines panifiables provenant du mélange des divers passages farineux participent aux qualités des composants.

En même temps l'absorption totale vers le violet, qui débute dans la majorité des cas de nos extraits vers $515\text{ m}\mu$ et vers $450\text{ m}\mu$ (à la concentration de 0 mg. 68 de pigment par litre) dans les expériences de Bailey, plaque n° 1, montre bien que le carotène n'est pas le seul carottinoïde présent. En conclusion, la couleur des extraits de la farine de froment nous paraît être due :

- a) à la chlorophylle;
- b) au carotène;
- c) à la xanthophylle,

et vraisemblablement à divers carottinoïdes, mais nous ne pouvons actuellement nous prononcer; l'appareillage nécessaire nous faisant défaut pour des raisons précédemment indiquées.

Carotène et Vitamine A dans les farines de froment.

Si nous avons particulièrement insisté sur les conditions de présence du carotène dans l'extrait des farines, c'est que ce dernier corps — d'après les recherches récentes de Steenbock (39), von Euler (40) et leurs collaborateurs, Moore (41), Kawakami et Kimmi (42) au Japon, Drummond (43), Javillier (44), von Stolk, Guilbert, Penau, Simonnet (45) — a été

(39) H. STEENBOCK et P.-W. BOUTWELL, *Journ. Biol. Chem.*, 1920, **42**, 131.

(40) VON EULER und P. KARRER, *Hélo. Chim. Acta*, 1929, **12**, 278; VON EULER, P. KARRER und M. RYDHOM, *Ber. Chem. Ges.*, 1929, **6**, 2445.

(41) E. MOORE, *Biochem. Jal.*, 1929, **23**, 803, 1267.

(42) KAWAKAMI et KIMMI, *Proc. Imp. Acad. Tokio*, 1929, **5**, 213.

(43) DRUMMOND, *Biochem. Jal.*, 1919, **13**, 98; *Chem. Industry*, 1930, **40**.

(44) JAVILLIER, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1930, **12**, 534, 709; JAVILLIER et EMERIQUE, *C. R. de l'Académie des sciences*, 1930, **190**, 663.

(45) VON STOLK, GUILBERT, PENAU, SIMONNET, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, **13**, 616.

reconnue comme étant la provitamine du facteur A, vitamine de croissance et antixérophtalmique.

La présence du carotène dans la farine de froment n'est donc pas négligeable, et nous avons demandé à l'expérimentation physiologique de nous préciser : d'une part, l'importance relative de ce facteur quant au rôle joué par la farine dans l'alimentation de l'homme; d'autre part, nous avons réclamé de ces essais biologiques un dosage de la quantité de carotène présent dans la farine. Dans cette dernière partie de notre expérimentation, nous nous sommes appuyé sur deux postulats :

a) Constatation de von Euler⁽⁴⁶⁾ que le carotène ne peut être remplacé par aucun des autres carotinoïdes comme facteur de croissance⁽⁴⁷⁾;

b) Les doses de carotène nécessaires à la reprise de la croissance chez le rat sont de l'ordre de 0 mg. 002 à 0 mg. 005^(47 bis).

Avant d'entreprendre la relation de nos expériences, il convient d'indiquer en quelques mots l'état de nos connaissances actuelles sur le carotène et la vitamine A.

Le carotène, nommé d'abord carottine par Wachenroder⁽⁴⁸⁾, qui le décrit en 1826, est classé par Palmer⁽⁴⁹⁾

Note. — Les analyses en vue de déterminer la valeur biologique du grain de blé ont été faites sur des rats par M. Collum. Les résultats obtenus ont une valeur plus grande pour l'alimentation du bétail qui consomme le blé entier que pour l'alimentation humaine qui n'utilise que la farine extraite à divers taux. On trouve les résultats de M. Collum, in *The never Knowledge of nutrition*, New-York, 1919. Lecoq, *Les aliments et la vie*, Vigot, édit., Paris, 1929, p. 45, en donne la relation.

(46) H. VON EULER, *Carotène et vitamine A*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1932, **14**, (6), 839; EULER, KARRER, RYDHOM, *Helv. Chim. Acta*, 1931, **14**, 1428.

(47) H. VON EULER, *loc. cit.*, p. 839.

(47 bis). B. V. EULER, H. V. EULER et H. HELLSTROÏN, *Vitamin. wis Kungen der Lipochrome*, *Biochem.*, 1929, **203**, 370.

(48) H. WACHENRODER, *Ueber das oleum radices Dauci Aetherum das carotin, deu caroten zucker und den officinellen unceus Dauci*. *Diss. de Anthelminticis*, Göttingen, *Geiger's Magaz Pharm.*, 1931, **33**, 144.

(49) L. PALMER, *Carotinoïds and related pigments, the chromolpoïds* *Chem. catalog. Co*, New-York, 1922.

dans les carottinoïdes de Tswett ⁽⁵⁰⁾, qui groupent les *chromolipoïdes* de Czapek ⁽⁵¹⁾ qui sont chimiquement et génériquement reliés au carotène. Deux classes de carottinoïdes sont comprises dans la définition de Tswett :

a) *Les carottines*, dont la composition et les propriétés montrent que ce sont des hydrocarbures identiques ou isomères du carotène;

b) *Les xantophylles*, dont la composition et les propriétés sont celles d'oxy-hydrocarbures, mais qui sont chimiquement et génériquement reliés au carotène.

Zeise, en 1847 ⁽⁵²⁾, vit le premier que le carotène est un carbure d'hydrogène; il lui attribua la formule : C^6H^8 .

Husermann, en 1861 ⁽⁵³⁾, au contraire, prétendit que le carotène était un corps ternaire et lui assigna la formule $C^{18}H^{24}O$, qui fut acceptée jusqu'aux travaux de Arnaud (1886) ⁽⁵⁴⁾, qui montra la facilité d'oxydation du carotène et proposa $C^{26}H^{38}$. Il décrivit aussi un dérivé iodé : $C^{26}H^{38}I^2$. C'est à Willstätter et Mieg 1907 ⁽⁵⁵⁾ que nous devons la formule globale, définitive du carbure :



Malgré les efforts d'Echer (1907), qui dispose de 150 grammes de carotène de carotte, la structure chimique du carbure ne peut être alors démontrée.

Le carotène est un pigment extrêmement répandu dans la nature :

(50) M. TSWETT, *Ueber den makro und mikrochemischen Nachweiss der carotins*. Ber. Holm. ces, 1911, 29, 630.

(51) F. CZAPEK, *Biochemie der Pflauzen*, Iéna, 113, 1, 803.

(52) ZEISE, *Ueber das carotin*, 1847, 42, 380, et *J. pratkt. chem.*, 1847, 40, 297.

(53) HUSERMANN, *Ueber Carotin und Hydrocarotin*, 1861, 117, 201.

(54) A. ARNAUD, *Recherches sur la composition de la carottine, sa fonction chimique et sa formule*, C. R., 1886, 102, 119.

(55) R. WILLSTATTER et MIEG, *Ueber die gelben Begleiter des chlorophylls*, Ann. 1907, 355, 1.

a) Dans les Phanérogames, où Frémy (1865) ⁽⁵⁶⁾ montre un pigment jaune allié à la chlorophylle dans les chloroplastides que Arnaud (1885) ⁽⁵⁷⁾ identifie avec le carotène confirmé par Willstätter et Mieg (1907) ⁽⁵⁸⁾. Le carotène se rencontre aussi bien dans les fleurs, les feuilles, les racines, que dans les fruits et les graines ⁽⁵⁹⁾.

b) Le carotène et la xanthophylle sont très répandus chez les Cryptogames, surtout chez les algues vertes. Le carotène paraît être le principe coloré des diatomées.

Certaines bactéries en possèdent, notamment le *B. egrugum*, le *Spaerotibus roseus* (a). Le carotène se rencontre aussi en abondance dans le règne animal, aussi bien chez Vertébrés que chez les Invertébrés.

a) Chez les Vertébrés. — Escher (1913) ⁽⁶⁰⁾ retira de 146 kilos d'ovaires de vache 0 g. 45 de carotène. O Bailly et R. Netter (1932) ⁽⁶¹⁾ obtinrent à partir de 30 kilos de surrénales de bœuf 0 g. 30 d'un carotène qu'ils identifient au carotène de la carotte. Enfin, Netter ^(61 bis) le trouvent dans les testicules et signale sa présence probable dans l'hypophyse des Bovidés.

b) Chez les Invertébrés. — Les pigments du type caroténoïdes sont fréquents; spécialement les téguments de cer-

(56) E. FREMY, *Recherches chimiques sur la matière verte des feuilles*, C. R. de l'Académie des sciences, 1865, **61**, 188.

(57) A. ARNAUD, *Recherches sur la composition de la carottine, sa fonction chimique, sa formule*, C. R., 1886, **102**, 119.

(58) R. WILLSTÄTTER et MIEG, *Ueber die gelben Begleiter des chlorophylls*, Ann. 1907, **355**, 1.

(59) A ce sujet, voir PALMER, loc. cit., p. 72, 3, 73, 88.

(a) PALMER, loc. cit., p. 123.

(60) H. ESCHER, *Ueber den Farbstoff des Corpus luteum*. Zischr. für physiol. Chem., 1913, **83**, 198.

(61) O. BAILLY et R. NETTER, *Sur l'isolement du carotène des glandes surrénales*, C. R. de l'Acad. des sciences, 1931, **193**, 961; *Recherches sur la carotène, Carotène des glandes surrénales*, Bulletin de la Société de chimie biologique, 1933, **14**, (4), 623.

(61 bis). R. NETTER, *Recherches sur le carotène des glandes endocrines des Bovidés*, Bulletin de la Société de chimie biologique, 1932, **14**, (10), 1535.

taines punaises sont colorés par le carotène. J. Verne (1920) ⁽⁶²⁾ a rencontré ce carbure chez les Crustacés.

Propriétés physiques et chimiques du carotène.

Le carotène cristallise en prismes rhombiques de sa solution sulfo-carbonée par addition d'alcool absolu, la cristallisation étant largement favorisée par le froid. On l'obtient de l'éther de pétrole sous forme de plaques quadratiques : l'aspect de ces cristaux rappelle le bichromate de potasse. Leur couleur varie, suivant leur épaisseur, du jaune brillant au rouge sombre; ils sont polychromatiques et paraissent mordorés par réflexion.

Le carotène cristallisé est presque insoluble dans l'alcool éthylique froid et encore plus dans l'alcool méthylique. Il se dissout avec difficulté dans les alcools chauds. L'éther de pétrole léger en dissout 1 gramme par 1 l. 1/2; la même quantité est dissoute par 900 cc. d'éther éthylique chaud.

Le carotène amorphe ou souillé, tel qu'on le rencontre au cours de sa préparation, se dissout très différemment du carotène cristallisé. Il est aisément entraîné par des solvants qui ne le dissolvent que faiblement quand il est pur. Cette solubilité « d'accompagnement », si l'on peut ainsi s'exprimer, rend sa séparation difficile au moment de sa préparation ^(a), ainsi que le rapportent van Stolk, Guilbert, Penau, Simonnet, et que nous l'avons personnellement contrôlé. L'acétone, même chaude, est un mauvais solvant. La benzine, le chloroforme, et surtout le sulfure de carbone, qui se colore alors en rouge sang, sont d'excellents solvants.

Palmer ⁽⁶³⁾ indique que les solutions de carotène ne sont pas altérées par les alcalis bouillants. Les préparations mo-

(62) J. VERNE, *Sur la nature du pigment rouge des Crustacés*, C. R., de la Soc. de biol., 1920, **83**, 963 et 988.

(a) VAN STOLK, GUILBERT..., *Carotène pur et Vitamine A*, Bulletin de la Société de chimie biologique, 1931, **13**, (6), 622.

(63) PALMER, *loc. cit.*, p. 219.

dernes de ce carbure utilisent largement cette propriété. Tswett ⁽⁶⁴⁾ a fondé un mode d'identification entre les divers carotinoïdes sur les pouvoirs d'adsorption du Cl^2Hg , Cl^2Ca , SPb . Certains charbons activés adsorbent aussi le carotène.

Les solutions alcooliques qui sont jaunes virent au vert par l'addition des acides minéraux forts et concentrés; l'ammoniaque restitue la couleur jaune.

La solution de carotène dans l'huile donne une belle réaction verte par dissolution d'un petit cristal de Cl^6Fe^2 dans l'huile chauffée. Cette réaction est commune à la xanthophylle. Palmer et Thrun ⁽⁶⁵⁾ montrèrent qu'il y avait là une oxydation des carotinoïdes, en même temps que le sel de fer se réduit à Cl^2Fe .

Carr et Price ⁽⁶⁶⁾ ont proposé l'addition de trichlorure d'antimoine aux huiles en solution chloroformiques; la naissance d'une teinte bleue devant signaler le carotène. A ce sujet, von Euler ⁽⁶⁷⁾ s'exprime ainsi : « On sait aujourd'hui que tous les polyènes, et par conséquent tous les *carotinoïdes*, donnent des réactions analogues. La réaction de Carr et Price ne saurait donc être employée que pour des analyses approximatives d'huiles et de graisses et lorsqu'on est certain que ces huiles ou graisses ne contiennent pas d'autres carotinoïdes susceptibles de troubler le résultat colorimétrique. »

En solution éthéro-pétrolique Schertz ⁽⁶⁸⁾ constate que le carotène est très stable; conservé au frais et à l'obscurité, il paraît être inaltéré aux mesures spectrophotométriques, même après cent cinquante jours.

(64) TSWETT, *Physikalisch chemische Studien über das chlorophyll, Die Adsorptionem*, Ber. botan. ges., 1906, 24, 316; *Adsorptions analyse und chromatographische Methode*. Ber. Botan. ges., 1906, 384.

(65) PALMER, LEROY and THRUN, WALTER (E.), *The detection of natural and artificial pigments in oleomargarine and butter*, Ind. ing. chem., 1916, 8, 614.

(66) CARR et PRICE, *Biochem. jal.*, 1926, 20, 497.

(67) VON EULER, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1932, 14, 164, 841.

(68) F. SCHERTZ, *Some physical and chemical proprieties of carotin and the preparation of the pure pigment*, J. Agr. Research, 1923, 30, 469.

Personnellement, nous avons conservé des solutions de carotène dans l'éther de pétrole léger pendant quatre mois, au frais et à l'obscurité. Le carotène extrait ensuite de ces solutions avait des caractéristiques normales. Comparé à du carotène frais que les établissements Byla avaient mis à notre disposition (a), ce carotène « attendu » montra des propriétés chimiques, physiques et biologiques équivalentes. Au contraire, le carotène cristallisé s'altère spontanément à l'air : le point de fusion baisse, les cristaux jaunissent, puis blanchissent; la lumière accélère la dégradation.

Le spectre d'absorption donné par Willstätter et Stoll, usant d'un spectroscope à réseau et des solutions à 5 milligrammes par litre, fut le suivant :

TABEAU XIII

Bande I	Carotène dans l'alcool		Carotène dans S ² C	
	5 mm.	10 mm.	5 mm.	10 mm.
	492-478	492-476	525-510	525-508
	459-446	459-445	489-475	490-474

Le point de fusion du carotène est une donnée bien controversée; en effet, si l'on compare les résultats de divers auteurs, les points s'échelonnent de 167° à 192°⁽⁶⁹⁾.

Les causes de divergences sont de deux ordres :

1° *Mauvaise purification des échantillons* : le carotène végétal est souillé de résidus qui rendent la préparation et la purification difficiles⁽⁷⁰⁾;

2° *Diversité des appareils à déterminer le point de fusion* : les essais au tube capillaire (température corrigée) donnent

(a) Nous remercions très vivement les établissements Byla de leur parfaite obligeance et leur exprimons notre entière reconnaissance.

(69) JAVILLIER, *Les vitamines au point de vue chimique*, Ann. Bras. Dist., 1933, (3), 67.

(70) O. BAILLY et NETTER, *Recherches sur le carotène, Carotène des glandes surrénales*, Bulletin Société de chimie biologique, 1932, 14, (4), 627.

régulièrement des chiffres inférieurs à ceux obtenus au bloc de Maquenne (écart 10°) (71).

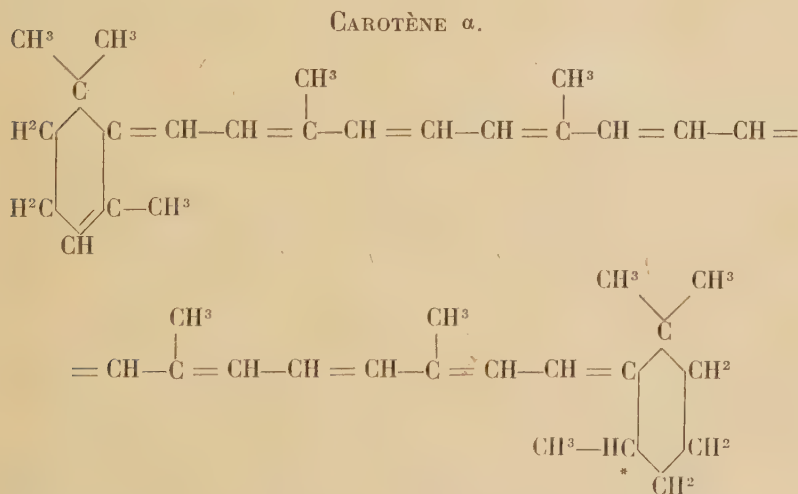
Nous pensons qu'en plus de la différence inhérente à l'appareil, la détermination au bloc de Maquenne doit être faussée par des oxydations éventuelles.

La structure chimique du carotène ou plutôt des carotènes est d'acquisition récente.

Karrer et ses collaborateurs (72) d'une part, Kuhn et Lederer (73) d'autre part, ont, en effet, montré qu'il existe deux carotènes : le carotène α et le carotène β , qui se différencient par leur solubilité, leur point de fusion, leur action sur la lumière polarisée; l'isomère α est dextrogyre, β inactif. Le carotène α fond plus bas, est plus soluble dans les solvants indiqués que le carotène β ; il présente une forme dissymétrique, β est symétrique.

Tous deux sont doués d'identiques propriétés vitaminiques, cependant qu'une forme artificielle, l'isocarotène, est inactif.

Voici les formules développées de ces carbures d'après P. Karrer :

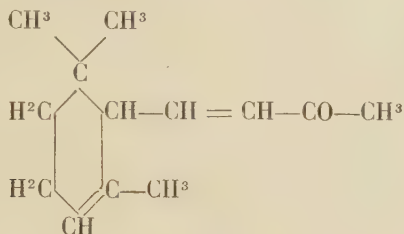


(71) Van Stolk, Guilbert, etc., *loc. cit.*, p. 628.

(72) Karrer, Helfenstein, Wehrli, Pieper et Morf, *Hel. chim. Acta*, 1931, 14, 614.

(73) Kuhn et Lederer, *Ber. chem. ges.*, 1931, 64, 1349.

L' α carotène diffère du β par un arrangement différent de sa chaîne aliphatique et par ses groupements terminaux dérivés vraisemblablement de l' α ionone.



Propriétés physiologiques du carotène.

C'est à un biologiste américain, Steenbock, que l'on doit l'idée première d'associer carotène et vitamine A. Cependant que Palmer et Kempster (1919) ⁽⁷⁵⁾ avaient montré la possibilité d'élever normalement des poulets avec des nourritures privées de carottinoïdes, Drummond (1919) ⁽⁷⁶⁾ essayant le carotène cristallisé à la dose de 0,003 p. 100 de la ration dans l'alimentation des rats albinos souffrant d'une carence en facteur A, conclut à l'inactivité de ce produit. Steenbock et ses collaborateurs ⁽⁷⁷⁾ montrent dans une série d'articles la corrélation existant entre la pigmentation des carottinoïdes et la vitamine A. En 1920, Steenbock, Sell, Nelson et Buell ⁽⁷⁸⁾ déclarent que « du carotène de point de fusion constant, recristallisé un grand nombre de fois, a toujours permis la croissance des rats dont le développement avait été entravé par une carence en vitamine lipo-soluble ».

(75) L. PALMER et KEMPSTER, *Relation of plant carotinoïds to growth fecundity, an reproduction of fowls. J. Biol. chem.*, 1919, 39, 299. — Voir aussi même publication, p. 313 et 331.

(76) J. C. DRUMMOND, *Researches un the fat soluble accessory substance, Biochem. jal.*, 1919, 13, 81.

(77) H. STEENBOCK, *Science N. S.*, 1919, 50, 352.

(78) H. STEENBOCK et E. G. CROSS, *J. Biol. chem.*, 1919, 40, 50; H. STEENBOCK, M. SELL, E. M. NELSON, M. V. BUELL, *The fat soluble vitamine. Proc. Ann. Soc. Biol. chem.*, déc. 1920, et *J. Biol. chem.*, 1921, 46; H. STEENBOCK, P. W. BOUTVEL et H. SELL, *J. Biol. chem.*, 1921, 47, 303.

Malgré cette expérience, ils concluent de façon étonnante : « En dépit de ceci, il n'y a pas de moyen de supposer que la vitamine lipo-soluble soit nécessairement un pigment. » Drummond et Coward (1921) ⁽⁷⁹⁾ trouvent que la synthèse de la vitamine A est associée à la formation de la chlorophylle. En 1922, l'idée prévaut que le carotène ne joue pas un rôle physiologique. Cette idée est ainsi exprimée par Palmer ⁽⁸⁰⁾ : « L'absence complète de carottinoïdes dans les tissus et les sécrétions de certains animaux, et leur absence presque complète chez certains autres, même dans le cas d'une nourriture riche en pigments carottinoïdes, fournit une base suffisante pour rejeter la théorie que les carottinoïdes exercent une fonction physiologique dans la vie animale. » Javillier et ses collaborateurs (1924) ⁽⁸¹⁾ étudient le *phytol*, alcool non saturé $C^{20}H^{40}O$ rentrant dans la composition de la chlorophylle et ne purent l'assimiler au facteur A. Mais en 1923, Takahashi et Kawakami ⁽⁸²⁾ isolèrent de l'huile de foie de morue une substance incolore, oxygénée, qui se comportait comme la vitamine A ⁽⁸³⁾ et lui donnèrent le nom de *biostérine*. Cependant Shimizu et Hatakagama ⁽⁸⁵⁾ attribuent l'activité A de l'huile de foie de morue à un corps incolore, le *vitostérol*, $C^{27}H^{44}O^2$. C'est alors que von Euler et Steffenburg (1928) ⁽⁸⁶⁾ constatèrent que le sérum de bœuf peut

(79) DRUMMOND et COWARD, *Bioch. jal.*, 1920, **14**, 668 (rapporté par PALMER, *Carotinoïds and related pigments*, p. 271).

(80) PALMER, *Carotinoïds and related pigments.*, *Chem. Catalg. Co.*, 1922, p. 268.

(81) M. JAVILLIER, P. BAUDE et LEVY-LAJEUNESSE, *Essais d'identification du facteur A, Le facteur A et le phytol*, *C. R. de l'Académie des sciences*, 1924, **179**, 998, cité d'après JAVILLIER, *Les vitamines au point de vue chimique*, *Ann. de Bras. et dist.*, 1933, (5), 69.

(82) K. TAKAHASHI, *Journ. Chem. Soc. Jap.*, 1922, **43**, 828 (d'après LECOO, *Les aliments et la vie*, (4), Paris, Vigot frères, 1929, p. 88).

(83) K. TAKAHASHI et K. KAWAKAMI, *Journ. chem. Soc. Jap.*, 1923, **4**, 590.

(85) T. SHIMIZU et T. HATAKAGAMA, *Ueber das Wachstumvitamin A*, *Ztschr. für physiol. chem.*, 1929, **182**, 56, cité d'après O. BAILLY et NETTER, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1932, **14**, (4), 623.

(86) VON EULER et STEFFENBURG, *Ztschr. für physiol. chem.*, 1928, **173**, 38; EULER et HELLSTRÖM, *Svensk Kem. Tidskr.*, 1928, **40**, 242, 236, et *Biochem. Ztschr.*, 1928, **203**, 370.

exercer une action notable sur la croissance; cherchant la substance active de ce sérum, Euler et ses collaborateurs⁽⁸⁷⁾ en retirèrent du carotène qui se montra doué d'un pouvoir vitaminique certain. Javillier et Mlle Emerique (1930)⁽⁸⁸⁾ firent connaître successivement : 1° que du carotène d'épinard est doué d'activité vitaminique A; 2° que du carotène très pur fondant à 185° (bloc de Maquenne) possédait encore cette activité. Van Stolk, Guilbert, Penau, Simonnet (1931)⁽⁸⁹⁾, montrèrent que le carotène hautement purifié — P. F. = 192° (bloc de Maquenne) était actif chez le rat à la dose de 0 mg. 002 par jour.

Enfin, les divergences de vues entre ces auteurs et Drummond furent supprimées quand on s'aperçut, grâce aux travaux de Moore, de Hume et Smedley Mac Lean⁽⁹⁰⁾, enfin de Drummond lui-même⁽⁹¹⁾, que l'oléate d'éthyle, support du carotène dans les expériences de Drummond et ses collaborateurs, annihilait rapidement l'activité A du carotène.

La vitamine A.

Le carotène se montrait donc lié de façon constante à la vitamine A, mais n'est pas (les travaux des chimistes japonais susmentionnés le prouvent) la vitamine A elle-même. Le trichlorure d'antimoine donne une réaction colorée avec le carotène et la vitamine A (insaponifiable d'huile de foie de morue en solution chloroformique). Moore⁽⁹²⁾ a montré, confirmant les travaux de von Euler, que le spectre d'absorption de la coloration bleue due au carotène est caractérisée par une bande à 590 m μ , cependant que celui, de la vitamine A dans

(87) JAVILLIER, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1930, **12**, 534.

(88) JAVILLIER et EMERIQUE, *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1930, **190**, 658; *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, **13**, 771.

(89) VAN STOLK, GUILBERT, PENAU, SIMONNET, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, **13**, 630.

(90) HUME et SMEDLEY MAC LEAN, *The Lancet*, 1930, **1**, 290.

(91) J. C. DRUMMOND, *Chem. Industry*, 1930, **49**, 291.

(92) T. MOORE, *Vitamin A and carotène*, *Biochem. Journ.*, 1930, **24**, 692.

les mêmes conditions présente une bande d'absorption de 608 à 612 m μ . Morton ⁽⁹³⁾ précise que dans ultra-violet la vitamine A isolée de l'huile de foie de morue donne une bande d'absorption très nette à 328 m μ . Von Euler ⁽⁹⁴⁾ dit que « le carotène dissous dans CHCl₃ donne, dans les mêmes conditions, une bande à 345 m μ . La β ionone montre une large bande à 294 m μ , influencée par l'absorption de cétone (maximum 273 m μ). La bande d'absorption de la vitamine A à 328 et la bande du carotène à 345 sont probablement dues au noyau de la β ionone, et même la bande 590 m μ du complexe avec Cl₃Sb est due à la β ionone : elle disparaît avec ce noyau. L'intensité de cette absorption de la vitamine A est parallèle à l'effet vitaminique des substances contenant la vitamine A ». Cette assertion de von Euler, appuyée sur les travaux de Miss Coward, paraît controuvée par les travaux de R.-J. Norris ⁽⁹⁵⁾, qui n'admet que l'essai biologique pour donner une idée juste de la teneur en vitamine A d'un produit essayé. D'après cet auteur, les essais colorimétriques et spectrophotométriques, qui concordent *généralement* entre eux, n'ont pas de corrélation exacte avec l'essai physiologique.

En outre, dans les réactions colorées de l'insaponifiable d'extraits de foies de rats carencés en facteur A, puis guéris par du carotène, la bande 279 m μ du carotène n'apparaît pas; la bande 345 m μ de la vitamine A est présente [Capper ⁽⁹⁶⁾, 1930]. L'organisme animal paraît ainsi capable de faire la synthèse de la vitamine A à partir du carotène. D'après Olcott

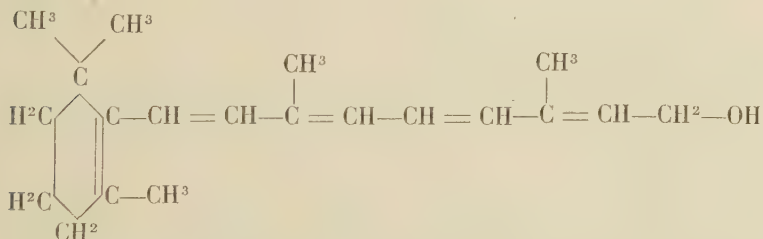
(93) R. A. MORTON, M. HEIHON and A. THOMPSON, *Spectrographie data concerning vitamin A and liver oils*, *Biochem. Journ.*, 1931, **25**, 20.

(94) V. EULER, Carotène et vitamine A, *Bulletin Société de chimie biologique*, 1932, **14**, (6), 841.

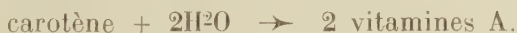
(95) R. J. NORRIS, *A comparison of the colorimetric, spectrographic and biological methods for the determination of vitamin A*, *Bull. of Basic science Research*, University of Cincinnati, 1931, **3**, (4), 249.

(96) N. S. CAPPER, *Carotene and Vitamine A; the transformation of carotene into Vitamin A as shown by a study of the absorption spectra of fat liver oils*, *Biochem. Journ.*, 1930, **24**, 980.

et Mac Cann (97), cette transformation serait d'origine enzymatique et pourrait être réalisée *in vitro* par macération de carotène avec des fragments ou des extraits aqueux de foie. Von Euler (98), opérant dans ces conditions, n'a obtenu que des résultats négatifs et attribue la transformation du carotène en vitamine A à une action prépondérante du « sang circulant », qui ne prend part à la réaction que dans l'organisme vivant; mais il a obtenu des résultats positifs avec du carotène et du sérum de poule (99). Le carotène et la vitamine A paraissaient donc être distincts, et Karrer, Morf et Schopp (100) proposèrent pour la vitamine A la formule $C^{20}H^{30}O$, qu'ils exprimèrent par la formule développée suivante :



C'est donc un alcool primaire; les éthers (acétique, para-oxybenzoïque) ont été préparés; les 5 doubles liaisons rendent possible plusieurs isomères; nous retrouvons le noyau de la β ionone. En fait, la vitamine A paraît être un demi-carotène allié à un groupe hydroxyle, ce que l'on peut schématiser, ainsi que l'indique R. Netter (101) :



(97) OLCOTT et Mc CANN, *Carotenase, The transformation of carotène to vitamin. A in vitro, journ. of biol. chem.*, 1931, **94**, 187.

(98) VON EULER, *Carotène et Vitamine A, Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1932, **14**, (6), 844.

(99) VON EULER, *Recent advances in the chemistry of the vitamins, British Medical Journal*, 27 juin 1931.

(100) KARRER, R. MORF, K. SCHOPP, *Zur Kenntnis des Vitamins A and Fischtzanem Helv. Chim. Acta*, 1931, **14**, 1036 et 1431.

(101) R. NETTER, *Recherches sur le carotène des glandes endocrines des bovidés, Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1932, **14**, 1536.

Le corps a été obtenu, à l'état pur, à partir des foies de poissons des mers européennes par Karrer et ses collaborateurs (102). Il suffit de 0 v, 1 (un dixième de millièrne de milligramme) pour qu'un rat dont le poids est stationnaire reprenne sa croissance normale (103).

Etude de l'activité A de l'extrait éthéré des farines de froment.

L'extrait éthéré des farines de froment possède certainement du carotène, mais à une dose que, selon nous, les essais spectrophotométriques de Bailey n'ont pas indiscutablement précisé. Nous avons recouru à l'expérimentation biologique pour déterminer :

- a) d'une part, l'ordre de grandeur utile du carotène contenu dans la farine;
- b) l'influence que peut présenter éventuellement la farine jouant le rôle de facteur A dans l'alimentation humaine.

Préparation de l'extrait. — Dans ce but, un échantillon de farine panifiable du commerce (extraction 72 p. 100) fut épuisé par la méthode que nous avons précédemment indiquée, par l'éther éthylique, et en prenant toutes précautions pour éviter l'oxydation. Les extraits furent conservés le minimum de temps pour éviter l'action possible oxydante des peroxydes contenus dans l'éther du commerce, à basse température (+ 2°) et dans l'obscurité. Ils furent ensuite distillés dans le vide à la température juste supérieure à celle d'ébullition du solvant. Ces extraits moussent abondamment, mais en faisant varier la pression intérieure grâce à un courant d'azote qui parvient dans le récipient par un tube capillaire débouchant au niveau supérieur du liquide, on parvient à briser cette mousse; une surveillance atten-

(102) KARRER, KLUSMANN et EULER, *Sv. Vet. Akad. Ar. Riv. J. Kemi*, 1931, 1013, n° 16; KARRER, EULER et SCHÖPP, *Helv. Chim. Acta*, 1932, 15, 493.

(103) KARRER, MORF et SCHÖPP, *Helv. Chim. Acta*, 1931, 14, 1036.

tive doit être exercée pendant toute la distillation. Vers la fin, il convient d'élever la température pour chasser toute trace du solvant; on y arrive sans dépasser la température de + 80°. Dans ces conditions, le carotène ne s'oxyde pas et nous savons que le facteur A est thermo-résistant (103 bis).

L'extrait laisse déposer en cours de concentration des flocons amorphes et blanchâtres, qui, purifiés, sont, ainsi que nous l'avons établi, du *palmitate de sitostéryle* (104). Séparé de ce précipité, l'extrait est conservé en ampoules remplies dans le vide et fermées à la lampe. Celles-ci sont conservées à l'abri de la lumière, à une température de + 2° dans un appareil frigorifique.

Choix du réactif animal. — Le rat blanc est, ainsi que le remarque Alquier (105), un animal particulièrement précieux pour toutes les opérations de contrôle biologique. Son poids, déjà important, croît assez rapidement pour que les expériences ne durent pas un temps trop long. Sa ration est assez réduite pour permettre l'entretien d'un grand nombre d'animaux sans frais exagérés. Il s'accommode parfaitement et prospère avec des régimes très monotones. Il supporte très bien une alimentation dite de « synthèse » composée de substances immédiates, naturelles, préparées au laboratoire. Sa prolificité remarquable permet d'étudier rapidement plusieurs générations successives et d'examiner ainsi les répercussions du régime sur la perpétuation de la race. Sa petite taille, son peu d'encombrement permettent de loger un grand nombre d'individus dans des locaux assez réduits. Cependant, une grande propreté est nécessaire. Le rat est aussi très sensible au froid et, en hiver, si l'on ne prend de rigou-

(103 bis). RANDOIN et SIMONNET, *Données et inconnues du problème alimentaire*, Paris, Presses universitaires, 1929, 2, 136.

(104) A. DANGOUMAU, *Identification du Palmitate de sitostéryle dans les farines de froment*, C. R. de la Société des sciences physiques de Bordeaux, févr. 1933.

(105) ALQUIER, *Bulletin de la Société d'Hygiène alimentaire*, 1917, 15, 67.

reuses précautions, les pertes par pneumonie sont fréquentes.

Enfin, c'est l'animal de choix pour l'étude de la vitamine A. Les symptômes caractéristiques sont en effet très nets, particulièrement la xérophthalmie.

Nos animaux d'expérimentation furent prélevés jeunes, à partir d'une même souche, dans un élevage parfaitement sain qu'entretenait, en vue d'expérience sur le cancer, M. Genevois, professeur de chimie physiologique à la Faculté des sciences de Bordeaux, à qui nous sommes heureux d'exprimer nos remerciements.

Ces rats, choisis du sexe mâle et d'un poids moyen d'une vingtaine de grammes, furent placés, quatre animaux ensemble, dans des cages disposées à 1 mètre au-dessus du sol, dans une salle bien aérée et éclairée par la lumière solaire non directe et diffusée. La température de 20° fut maintenue constante pendant la durée de l'expérience. Nous avons constaté, sur d'autres sujets, que les écarts de température altéraient complètement les résultats des essais.

Ces rats furent d'abord soumis à un régime préexpérimental, pauvre en vitamine A, car, ainsi que l'indique Simonnet ⁽¹⁰⁶⁾ et que nous l'avons nous-mêmes constaté, les animaux sont capables de constituer, s'ils sont alimentés par un régime favorable, de véritables réserves de facteur A. Nous rapporterons à ce sujet l'expérience suivante : de très jeunes rats du poids moyen de 18 grammes sont mis à un régime varié, contenant de la carotte à volonté et amenés ainsi au poids de 90 grammes; soumis à ce moment au régime carencé, déficient en facteur A, que nous définirons plus loin, ils continuent à croître pendant quarante-cinq jours (durée de l'expérience), prenant 10 grammes en moyenne par semaine.

Le régime *préliminaire* était constitué de pain trempé dans du lait; on amène ainsi les animaux du poids de 20 grammes

(106) H. SIMONNET, *Le facteur liposoluble A, la croissance et la reproduction*, thèse de sciences naturelles, Paris, 1925.

à 50-60 grammes, où le régime carencé en facteur A leur fut administré.

Choix et préparation des aliments du régime de carence. — Le régime adopté est celui décrit par Javillier (1923) et rapporté par L. Randoin et Simonnet ⁽¹⁰⁷⁾; il comporte :

Caséine purifiée	13
Levure de bière (sèche)	4
Huile d'arachides	15
Fécule	57
Papier filtre	7
Matières minérales	4
	100

La caséine est pauvre en cystine, mais, employée à une dose supérieure à 9 % de la ration ⁽¹⁰⁸⁾, elle satisfait à la loi du minimum d'Osborne et Mendel ⁽¹⁰⁹⁾ :

« *La quantité nécessaire et suffisante d'une albumine donnée qui doit figurer dans la ration d'un animal afin d'en permettre la croissance ou l'équilibre azoté, est déterminée par le pourcentage auquel l'acide animé indispensable, existant en quantité minimum, entre dans la composition de cette albumine.* » Cependant, la caséine du commerce retient des quantités notables de facteur A. Pour la débarrasser de cette présence, nous avons eu recours à l'oxydation par l'air à température assez élevée; méthode déjà employée par Drummond et Coward ⁽¹¹⁰⁾. Nous avons étendu la caséine en couches minces sur des plaques de tôle qui furent introduites dans un four de boulanger. La température de 110-120° fut maintenue pendant vingt-quatre heures, cependant que le renouvellement de l'air était assuré par le tirage des « ouras ». Nous reconnaissons avec Randoin et Simon-

(107) LUCIE RANDOIN et SIMONNET, *Les données et les inconnues du problème alimentaire*, Paris, Presses universitaires, 1927, 2, 65.

(108) LUCIE RANDOIN et SIMONNET, *loc. cit.*, p. 52.

(109) OSBORNE et MENDEL, *Journ. Biol. Chem.*, 1915, 20, 351 et 378; 1916, 25, I.

(110) DRUMMOND et COWARD, *Bioch. Journ.*, 1920, 14, 661.

net⁽¹¹¹⁾ que c'est là une méthode brutale qui peut provoquer des transformations inconnues. Cependant, ainsi nous l'indiquerons par la suite, nous avons vérifié par des expériences de contrôle que cette caséine, ainsi privée de facteur A, n'exerçait pas d'action empêchante sur l'action du facteur A apporté en supplément dans la ration. Cette constatation nous a fait persister dans la purification de la caséine par oxydation du facteur A contenu et renoncer aux méthodes qui utilisent l'épuisement par l'alcool comme trop longues et trop onéreuses.

L'huile d'arachides, employée comme source de lipides dans notre ration, avait été, au début d'expériences préliminaires, chauffée pendant deux heures à une température de 130°. Nous avons renoncé par la suite à cette pratique, des essais comparatifs avec et sans chauffage nous ayant donné les mêmes résultats.

La fécule fut utilisée telle que fournie par le commerce.

La levure de bière du mélange Javillier fut remplacée par une levure de boulangerie à la dose de 4 grammes de substance sèche % de ration. Les lipides de la levure contiennent une petite quantité de facteur A (Luc et Mac Lean), mais cette quantité est négligeable si on considère la levure totale (Drummond⁽¹¹²⁾, Osborne et Mendel⁽¹¹³⁾, cités par Randoin et Simonnet⁽¹¹⁴⁾).

Chlorure de sodium	0,173
Sulfate de magnésium anhydre.....	0,266
Phosphate monosodique	0,347
Phosphate dipotassique	0,954
Phosphate monocalcique	0,540
Lactate de calcium	1,300
Citrate ferrique	0,118 —
pour 100 grammes de ration.	

(111) RANDOIN et SIMONNET, *loc. cit.*, p. 52, vol. II.

(112) H. C. DRUMMOND, *A study of the water soluble accessory growth promoting substance in yeast*, *Bioch. Journ.*, 1917, **11**, 255.

(113) T. B. OSBORNE et Z. B. MENDEL, *A critique of experiment made with diets free from fat soluble vitamin*, *Journ. Biol. chem.*, 1921, **45**, 277.

(114) R. L. et S., *loc. cit.*, p. 60, vol. II.

C'est la formule n° 185 de Mac Collum et Davis ⁽¹¹⁵⁾. Nous avons ajouté des traces d'iodure de potassium. Les rats, bien que peu sensibles à la carence en facteur C, recevaient hebdomadairement le jus d'un demi-citron par quatre animaux, quantité négligeable par rapport au facteur A qui peut être contenu (la question est controversée pour les faibles doses) et à l'acidité apportée.

Les divers éléments de la ration étaient très soigneusement mélangés et l'addition d'huile permettait d'en faire une pâte commode à manipuler et à distribuer. Cependant, les rats, ainsi que le note Alquier ⁽¹¹⁶⁾, ont des préférences alimentaires très marquées et, malgré le soin apporté au mélange, ces animaux triaient les fragments de levure et les consommaient de préférence. Cette levure fut alors délayée avec un peu d'eau de manière à former une pâte qui, mélangée au reste des aliments, fournit un ensemble impossible à trier mécaniquement.

L'eau de boisson est en permanence à la disposition des sujets, au moyen d'abreuvoirs en verre du modèle courant servant aux oiseaux et que les aviculteurs appellent « canaris ».

Contrôle de l'efficacité du régime. — Avant de commencer les expériences sur le rôle biologique de l'huile de blé, nous avons tenu à contrôler :

- a) l'influence du régime sur la croissance des animaux;
- b) sa spécificité en temps que déficience en facteur A.

Une vingtaine d'animaux de sexe mâle, du poids moyen de 50 grammes, furent répartis par quatre dans les cages d'expérience et reçurent le régime d'essai. En même temps,

(115) E. V. MC COLLUM et M. DAVIS, *Observations on the insolation of the substance in butter fat which exerts a stimulation influence on growth*, Journ. Biol. chem., 1914, **19**, 245.

(116) ALQUIER, *Recherches biologiques et essais pratiques d'alimentation*, Bull. de la Société d'hygiène alimentaire, 1927, **15**, (2), 63.

quatre rats de même sexe furent séparés et nourris d'un régime varié contenant abondamment le facteur A apporté dans la ration par de la carotte pulpée.

La courbe I du graphique I traduit le développement normal des animaux témoins. Cependant que les animaux carencés, ayant continué à croître jusqu'à 75 grammes d'une façon naturelle, commencèrent à perdre du poids et tombèrent à 69 grammes; à ce moment, on introduisit dans la ration de l'huile d'arachides tenant en solution du carotène pur préparé ainsi qu'il sera rapporté plus loin. Cette expérience étant entreprise à titre purement qualitatif, le pourcentage de carotène ainsi absorbé ne fut pas mesuré. Les animaux reprirent rapidement du poids et leur croissance redevint normale, ainsi qu'il est exprimé par la courbe II, graphique I.

Les conséquences de cette expérience sont les suivantes :

- a) Le régime entraîne une chute nette de la croissance;
- b) La reprise de croissance est obtenue par l'introduction de carotène dans la ration.

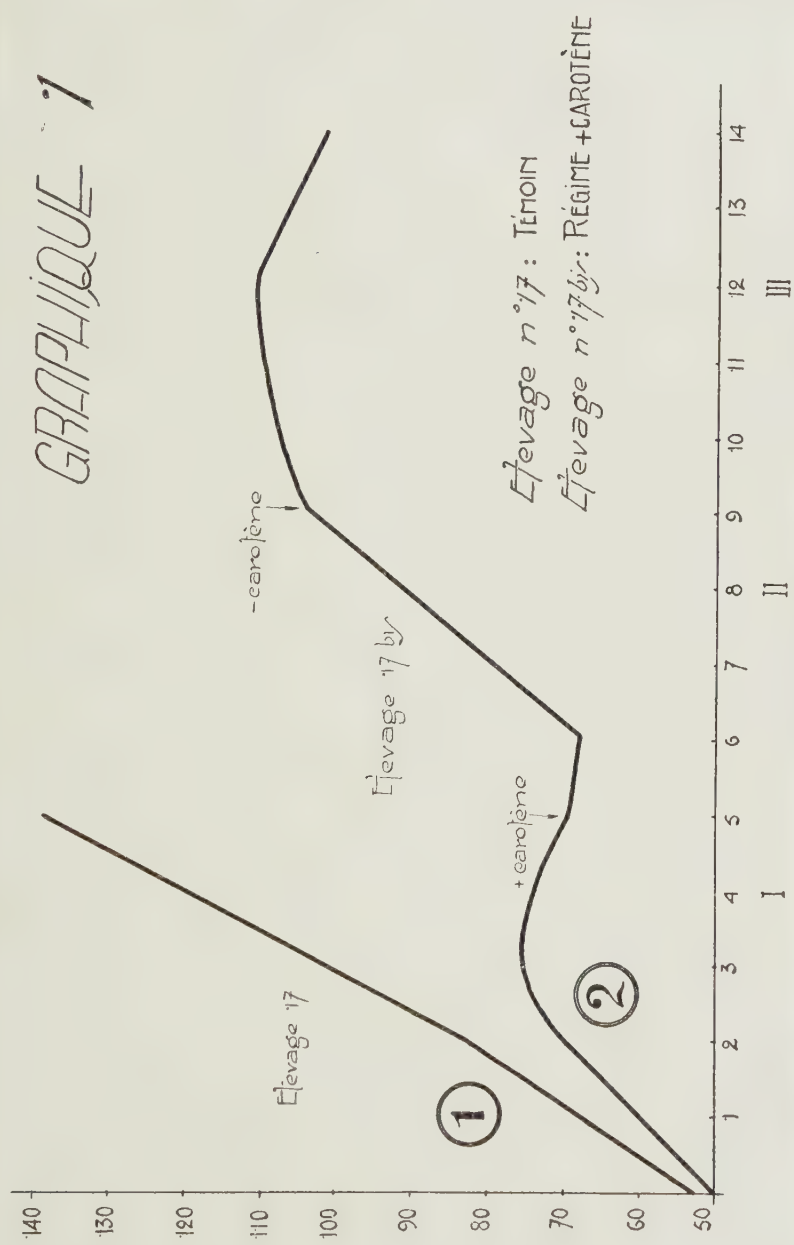
Le régime adopté est donc favorable à une étude expérimentale du facteur A des extraits de farine.

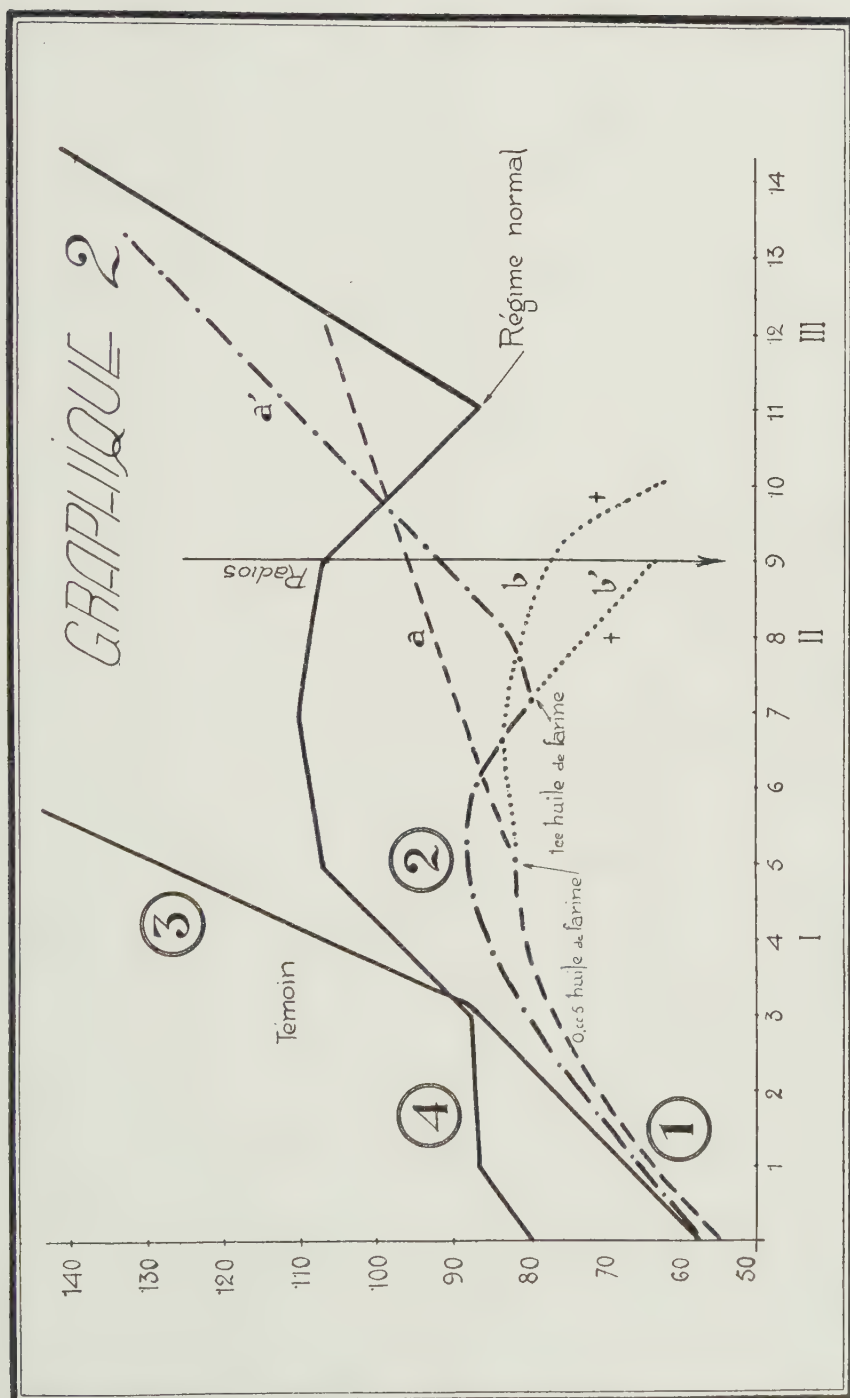
Préparation du carotène de contrôle. — Le carotène employé dans les expériences de contrôle fut préparé par la méthode de Penau et Simonnet ⁽¹¹⁷⁾ :

50 kilos de carottes furent soigneusement lavées et débarrassées de leurs parties vertes, puis broyées et pulpées, ensuite séchées à la température d'abord de 80°, puis de 105° dans un four de boulangerie. Le produit sec fut ensuite finement broyé et tamisé. La poudre obtenue fut épuisée par l'éther de pétrole léger dans des percolateurs ordinaires, en suivant les préceptes de Codex. Les premiers passages réunis et refroidis laissèrent déposer de fins cristaux mordorés

(117) VAN STOLK, GUILBERT, H. PÉNAU, H. SIMONNET, *Carotène pur et vitamine A*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, **13**, 616.

GRAPHIQUE 1





souillés par différents produits amorphes. Recueillis par décantation et centrifugation, ils furent lavés à l'éther de pétrole, refroidi à -15° ; enfin, dissous dans le toluène, ils furent soumis à une saponification, suivant la technique de Penau et Simonnet. Les cristaux obtenus par dépôt à froid fondirent à 173° (bloc de Maquenne). Nous n'avons pas jugé utile de pousser plus loin la purification, les expériences entreprises avec le carotène n'ayant que le seul but de contrôler l'efficacité de notre régime.

Expériences sur l'extrait éthéré des farines de froment.

En possession d'un régime convenable, les expériences proprement dites sur l'extrait des farines de froment furent alors entreprises. Cinquante rats choisis comme précédemment, furent isolés en dix cages. Les essais portèrent :

a) Sur un extrait frais préparé et conservé, ainsi qu'il est dit précédemment;

b) Sur deux extraits préparés dans les mêmes conditions, l'un en 1928, l'autre en 1931, mais conservés dans l'obscurité en flacons pleins et bien bouchés. Ces deux extraits étaient fortement rances.

Signes cliniques de la carence. — Les rats soumis au régime carencé en facteur A continuent à croître normalement pendant deux à trois semaines, puis diminuent sensiblement de poids; la courbe représentative de leur accroissement s'infléchit et tend à décrire un palier plus ou moins long suivant les individus, mais assez constant quand on compare les résultats par moyenne de cages; enfin survient une chute brusque rapide et continue (courbe I, graphique II).

En même temps, l'aspect extérieur des animaux a fortement changé. La démarche est devenue saccadée, traînante; les rats hésitent à grimper aux parois verticales de la cage; ils passent fréquemment leurs pattes sur leur museau, leurs oreilles apparaissent comme décollées, décolorées, diaphanes.

Les poils se hérissent, les animaux tremblent, se replient sur eux-mêmes, comme s'ils avaient froid malgré la température constante, dans l'attitude que met bien en évidence la photo n° 3. Leurs yeux présentent les troubles et les lésions de la xérophtalmie⁽¹¹⁸⁾, caractérisée par un boursoufflement des paupières; un suintement continu, puis l'occlusion des yeux, enfin peut survenir la cécité complète par fonte du globe oculaire; quelquefois, la mort du sujet interrompt ce processus. Des chiffres très divers ont été rapportés au sujet de la fréquence de cette affection sur les rats carencés en facteur A (Bulley, 2 %; Ernnet, 99,9 %). Tous nos rats ont été atteints de xérophtalmie, mais à des degrés très différents, allant du simple gonflement légèrement purulent des paupières à la disparition totale du globe oculaire. Elle est toujours survenue au moment de la régression du poids des sujets.

Enfin, les animaux firent preuve d'un appétit ralenti; ils souffrent d'une abondante diarrhée. Chez le mâle l'atrophie des testicules est à noter. Dans cette période de dépression, les maladies bactériennes ou pulmonaires sont à redouter, et si de grandes précautions ne sont pas prises, l'élevage peut être décimé en quelques jours.

La courbe I, graphique I, montre une courbe de poids en régime carencé avec reprise de croissance provoquée par le carotène. La courbe I, graphique II, montre en (a) la reprise provoquée par l'huile de blé, cependant que la fraction (b) est relative à des animaux maintenus au régime incomplet. La croix marque le début des décès.

Intervention curative. — A quel moment convient-il d'intervenir pour tâcher d'arrêter les processus de ces phénomènes morbides et chercher à obtenir une reprise de la croissance ?

Certains auteurs, comme Sherman et Munsell⁽¹¹⁹⁾, précoc-

(118) LECOQ, *Les aliments et la vie*, p. 80.

(119) H. C. SHERMAN et H. E. MUNSELL, *The quantitative determination of vitamin A*, *Journ. of Am. Chem. Soc.*, 1925, 47, 1639.

PLANCHE III



nisent l'intervention quand la courbe des poids paraît s'être stabilisée pendant une huitaine de jours. Deux objections sont à formuler :

a) La simple cessation de croissance sans perte de poids marquée est souvent le fait d'une anomalie étrangère à la marche générale de l'expérience; elle est quelquefois suivie d'une reprise de la croissance des animaux.

La courbe IV du graphique II montre l'exemple d'une stabilisation de la croissance en régime carencé A qui a duré deux semaines. Elle est suivie d'une reprise sans que le régime ait été modifié en quoi que ce soit.

b) Au contraire, en sept ou huit jours, des différences marquées peuvent se produire et la courbe être revenue rapidement déclinante. Cette objection est formulée par Javillier ⁽¹²⁰⁾; elle nous semble justifiée surtout dans le cas d'animaux jeunes, mais dans nos expériences nous avons presque toujours constaté des paliers d'une longueur telle qu'ils permettaient l'intervention bien avant la chute brusque des poids. Cependant, la courbe II du graphique II montre que la stabilisation des poids ne s'est guère maintenue que huit jours. La courbe est aussitôt après rapidement décroissante.

Le contraire a lieu dans la courbe I, graphique II.

Javillier, Baude, Lévy-Lajeunesse ⁽¹²¹⁾ proposent de fixer le point de départ au moment où l'animal a perdu 10 % du poids maximum atteint par lui. Javillier et Mlle Emerique ⁽¹²²⁾ remarquèrent que cette façon de procéder n'est pas parfaite et « qu'attendre que les animaux aient perdu 10 % de leur poids, c'est laisser s'intensifier certains phénomènes pathologiques (xérophthalmies, troubles respiratoires, infections diverses), les animaux sont en moins bon état que quelques jours plus tôt, et l'on est en droit de penser que

(120) JAVILLIER et Mlle EMERIQUE, *Remarques relatives au titrage physiologique de l'activité vitaminique A*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, 43, 772.

(121) JAVILLIER, BAUDE, LÉVY-LAJEUNESSE, *Sur le dosage physiologique du facteur A*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1923, 7, 831.

(122) JAVILLIER et Mlle EMERIQUE, *loc. cit.*, p. 772.

l'égalité de la chute de poids n'a pas nécessairement pour corollaire l'égalité de l'état physiologique. »

Ayant essayé de satisfaire à cette condition, nous avons constaté qu'il nous était difficile d'y parvenir. L'élevage n° 16 comprenant cinq rats parvenus au poids de 88 grammes commença à décliner rapidement et atteignit en trois semaines le poids de 80 grammes, soit une perte de 9 %, mais les rats présentaient alors une santé si misérable que la mort dè deux individus survint aussitôt et que le traitement curatif appliqué aux trois survivants ne put leur assurer une sensible reprise de croissance.

Résultats de la cure. — Dans les expériences que nous rapportons, nous avons adopté :

- 1° l'intervention au bout d'une semaine de palier sensiblement horizontal (courbe n° 1, graphique II), comme Shermann et Munsell;
- 2° l'intervention en période décroissante après une perte d'environ 5 % (courbe n° 2, graphique II).

On remarquera que dans le premier cas la courbe des animaux témoins continue son palier pendant quelque temps. Au moment convenable, ainsi fixé, nous avons introduit l'extrait de farine de froment en le mélangeant à une certaine quantité de la ration, et préparant ainsi une pâtée épaisse. Pour être sûr des quantités absorbées, cette pâtée fut donnée seule, le reste de la ration n'étant apporté qu'ensuite, quand les animaux avaient ingéré la totalité du remède. En opérant à des heures très régulières, il n'y a aucune difficulté à faire absorber librement et rapidement la portion alimentaire. D'ailleurs, l'huile fraîche de froment a une odeur agréable pour l'homme et qui ne laisse pas les rats insensibles. Fait à remarquer, les animaux les plus malades paraissent les plus voraces, comme si un instinct obscur les avertissait qu'on leur apportait une planche de salut. Le fait contraire fut constaté pour l'huile rance, que les rats paraissent

PLANCHE IV



sent n'accepter qu'avec quelque répugnance et qui ne donna aucun résultat. Les quantités apportées et nécessaires à la reprise furent de 0 cc. 5 à 1 cc. par jour et par rat.

Le traitement entraîna rapidement une amélioration marquée. Les poils d'abord parurent plus souples. La couleur et la consistance des excréta se modifièrent, tendant à redevenir normales. Les yeux reprirent bientôt leur éclat, au moins chez les sujets peu atteints; chez certains autres des lésions graves étant survenues ne purent être guéries. La photographie n° 4 montre l'aspect du rat précédemment photographié après quinze jours de traitement.

En même temps, des rats du même âge : 1 rat témoin A (voir planche 5), 1 rat B, d'abord carencé, puis traité et pris en plein rétablissement (voir planche 6), 1 rat C (voir planche 7), arrivé à la dernière période de dépérissement (l'instant du prélèvement est indiqué sur les courbes), ont été soumis à l'examen du Docteur Dubroca, radiologiste, auquel nous exprimons toute notre reconnaissance.

Les radiographies ont été exécutées dans les mêmes conditions : contact tournant de Gaiffe, 5 milliampères seconde, sous 60 kilovolts à 60 centimètres de distance.

L'examen comparatif des radiographies montre qu'il n'existe, chez les rats B et C, aucune altération pathologique du squelette, en particulier des cartilages de conjugaison des épiphyses des membres inférieurs. Il n'existe pas non plus de courbure anormale des diaphyses.

L'opacité des tissus osseux est la même sur les trois films exécutés dans les mêmes conditions. Seul l'examen de la taille des différents os de ces trois rats d'âge identique montre qu'elle est particulièrement réduite chez le rat C, moins chez le rat B. Ce développement insuffisant du squelette n'altère d'ailleurs pas les proportions des différentes parties de l'animal, proportions qui restent les mêmes que chez le sujet A.

En résumé, la radiographie ne montre aucune lésion rachi-

tique, mais simplement une diminution d'ensemble du squelette.

Enfin, pour vérifier si l'alimentation à laquelle les rats étaient soumis ne provoque pas de troubles ou de lésions du tube digestif, un lot de ces animaux fut placé au régime carentiel (courbe IV, graphique II), puis, quand tous les signes de la carence furent évidents, un régime varié : pain, lait, légumes verts et carottes, fut présenté. Les sujets reprirent instantanément du poids et leur courbe de croissance devint immédiatement parallèle à celle des témoins. Conservée depuis, ils n'ont jamais manifesté de troubles; ils se reproduisent normalement. Seuls certains sont aveugles. Mais en aucun cas ils n'ont atteint la taille des rats témoins.

Les courbes 1 et 2 du graphique II illustrent les résultats obtenus.

On obtient la reprise sensiblement normale par 1 cc. d'extrait, la courbe de croissance fait un angle d'environ 50° avec l'horizontale, cependant que l'angle de croissance normale est dans nos expériences de 70°. Avec la dose de 0 cc. 5 on remarque un angle de 25°. Dans le premier cas, le gain de poids quotidien, calculé sur une période de trente jours, est de 1 g. 3; dans le second cas, le gain calculé sur quarante-neuf jours est de 0 g. 51.

Or, Javillier⁽¹²³⁾ réclame pour « l'unité de facteur A » un gain quotidien de 0 g. 55 maintenu pendant trente jours et un angle de croissance de 30°. Ce résultat est sensiblement atteint par la dose 0 cc. 5 (angle 25°, gain 0 g. 51).

Javillier indique encore que l'unité de Chick⁽¹²⁴⁾ exige un gain quotidien de 1 g. 43, ce dont nous approchons par la dose de 1 cc., qui assure un accroissement de 1 g. 33 par jour.

(123) JAVILLIER et EMERIQUE, *Remarques relatives au titrage physiologique de l'activité vitaminique A*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, 13, 771.

(124) H. CHICK et M. H. ROSCOE, *Influence of diet and sunlight upon the amount of vitamin A and vitamin D in the milk afforded by a cow*, *Biochem. Journ.*, 1926, 20, 632.

PLANCHE V



DANGOUMAU (p. 66-1).

PLANCHE VI



DANGOUMAU (p. 66-II).

PLANCHE VII



Conclusions des essais.

Si, en examinant ces chiffres, nous tenons compte de la remarque de Mme L. Randoïn ⁽¹²⁵⁾ : « On a constaté que des doses journalières d'environ 3 γ à 5 γ de l'étalon international (carotène), administrées à de jeunes rats, convenablement préparés, par un régime de carence en vitamine A, suffisent pour faire reprendre la croissance et guérir la xérophthalmie. » Nous pourrions alors faire le raisonnement suivant : « 1 cc. d'extrait de farine équivaut physiologiquement à 0 mg. 005 de carotène, et sera contenu dans environ 100 grammes de farine (indigène). »

Les chiffres rapportés par Bailey et Ferrari supposent à la farine une teneur en carotène de 0 mg. 300 à 0 mg. 200 %. Nous avons montré que ces chiffres nous paraissaient exagérés. L'expérimentation physiologique semble devoir confirmer nos raisons.

La conséquence immédiate de ces essais, c'est que ni la farine ni le pain ne sauraient être, dans l'alimentation animale et humaine, des vecteurs intéressants du facteur A.

Si nous rapprochons ce résultat des constatations de Fleurent sur la valeur alimentaire des protides et des matières minérales de la farine, nous voyons que le pain reste essentiellement un facteur hydrocarboné et que les raisons invoquées pour introduire dans la farine les produits de queue de la mouture, raisons qui ne se justifient ni par la théorie calorifique de la valeur des aliments, ni par les pratiques industrielles, qui, au contraire, font rejeter ces produits comme étant de mauvaise conservation, ne trouvent pas davantage dans l'expérimentation physiologique moderne un meilleur fondement.

Nous allons voir enfin dans la dernière partie de ce travail que la panification elle-même serait améliorée si l'on pouvait éliminer tout ou partie des matières grasses de la farine.

(125) Mme L. RANDOÏN, *Exposé des décisions prises par la Conférence internationale de Londres sur l'étalonnage des vitamines*, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, 1931, 13, 1284.

TROISIÈME PARTIE

ETUDE TECHNOLOGIQUE DE L'EXTRAIT ETHERE DES FARINES DE FROMENT

Caractères des farines dégraissées.

L'épuisement de la farine par les solvants des graisses produit des modifications importantes de ses caractères extérieurs. Cette farine paraît alors en tous points semblable à une marchandise transformée et usée par le temps; elle ne s'agglomère pas par la pression de la main; elle ne « pelote » pas, suivant l'expression technique; elle fuit entre les doigts, comme le ferait du plâtre; sa saveur est fade; son odeur, qui, quand elle est fraîche, rappelle celle de la noisette, est devenue nulle; elle est aussi extrêmement plate au toucher. Soumise à l'examen d'un boulanger, celui-ci, *a priori*, en présence de ces caractères défavorables, la rejetterait comme impropre à la panification.

Cependant, si l'on essaie d'en extraire le gluten par le procédé ordinaire de lixiviation, on y parvient aisément, mais ce gluten qui, tiré de la farine normale, apparaissait comme une masse jaunâtre, élastique, extensible en minces pellicules, est devenu une matière grumeleuse, fragmentaire, non extensible et blanche.

Il suffit, pour lui rendre instantanément ses qualités d'agglomération, d'extension, sa couleur, de le tremper dans l'huile extraite de la farine.

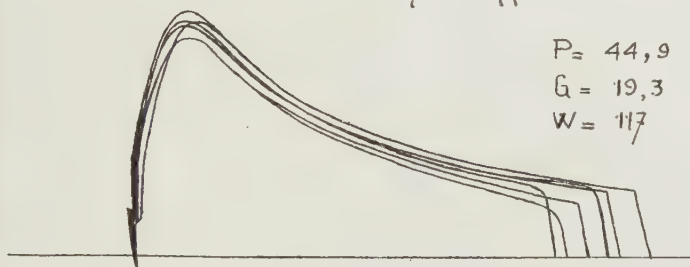
La conséquence la plus curieuse, comme la plus importante, de cette expérience est de démontrer que l'extensibilité du gluten est liée étroitement à la présence des matières grasses (125 bis). Nous avons vérifié que cette propriété s'étendait :

(125 bis) A. DANGOUMAU, *Notes sur la valeur boulangère des farines, déter-*

GRAPHIQUES III, IV, V

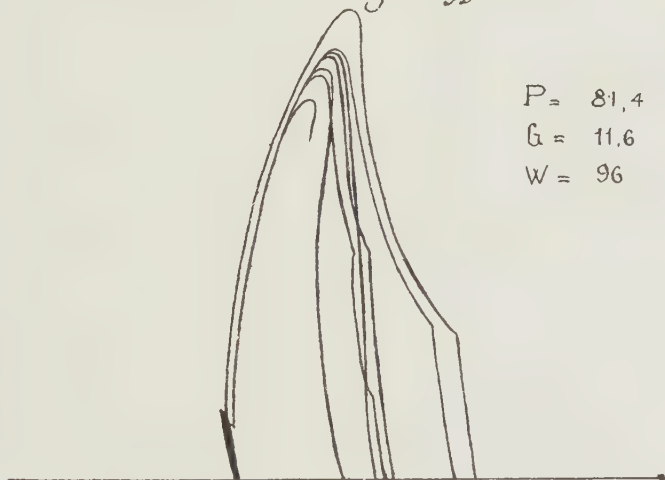
III

Farine naturelle



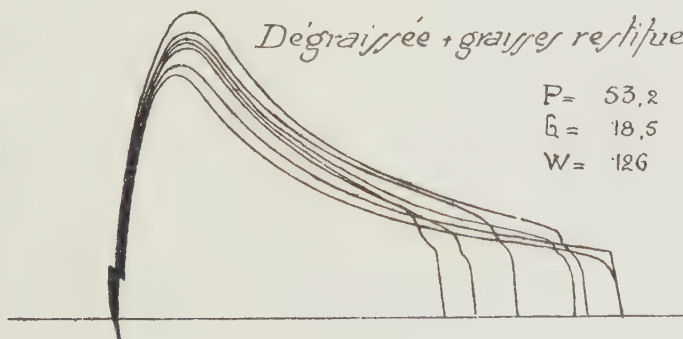
IV

Farine dégraissée



V

Dégraissée + graisses reconstituées



a) à la farine : une farine dégraissée, qui fuit dans les doigts, recevant 1 % d'huile, se réunit ensuite « en pelote » normalement par la pression de la main;

b) elle s'étend aux pâtes de farine : en effet, si nous soumettons à l'appréciation de l'extensimètre de Chopin ⁽¹²⁶⁾, appareil qui traduit graphiquement et numériquement la cohésion et l'extensibilité des pâtes de farine :

1° une farine naturelle;

2° cette farine dégraissée,

nous constatons que la deuxième montre une ténacité plus grande (pression), mais une extensibilité (gonflement) plus réduite que la première.

Nous donnons, graphiques III, IV et V, les extensigrammes de trois farines (III normale, IV dégraissée, V matières grasses restituées). Nous avons bien souvent renouvelé ces essais; ils nous ont toujours répondu dans le même sens. Nous rapportons, au point de vue analytique, quelques chiffres dans le tableau suivant :

TABEAU XIV

NATURE des FARINES	GLUTEN			ACI- DITÉ.	MATIÈ- RES GRASSES.	HUMI- DITÉ.	POU- VOIR DIASTA- SIQUE amyloly- tique.
	humide.	sec.	hydrat.				
Blé Durum	30,2	10,8	64,2	0,047	1,53	44	35
Blé dégraissé	28,3	9,5	66,4	0,029	0,15	15	35
Blé Duluth	28,5	10,5	63,1	0,042	1,58	13,5	40
Blé dégraissé	25	9	64	0,028	0,15	1,2	40
Farine indigène 72 %	26,16	9,42	63,9	0,037	1,16	15,5	—
Farine dégraissée..	24,85	8,85	64,3	—	0,08	14,8	—

mination « a priori » de l'aspect et du volume du pain, Extraits des Procès-verbaux des séances de la Société des sciences physiques et naturelles de Bordeaux (1932-1933).

(126) M. CHOPIN, Relation entre les propriétés mécaniques des pâtes de farine et la panification, Bulletin de la Société d'Encouragement industrielle nationale, 1921, 133, 261. — Voir aussi sur cette question, A. DANGOUMAU, Bulletin de biologie chimique, 1929 (27).

De ces données il résulte que l'extraction à l'éther entraîne une diminution dans le pourcentage du gluten; ce résultat s'explique par le fait que le gluten normal contient toujours une certaine quantité de graisses, qui d'ailleurs lui communiquent les qualités plastiques dont nous venons de parler.

L'hydratation augmente légèrement.

Balland (1907) ⁽¹²⁷⁾ avait obtenu des résultats analogues. Enfin, le solvant entraîne mécaniquement une petite quantité de protides, que l'on retrouve, ainsi que nous l'avons montré ⁽¹²⁸⁾, dans la fraction insaponifiable de l'extrait.

La teneur en eau des farines dégraissées est identique à celle des farines naturelles, la légère différence constatée provient de la ventilation nécessaire au départ du solvant.

Le pouvoir diastasique, amylolytique reste invariable.

Influence des graisses sur les constituants de la farine.

Nous avons cherché à connaître l'influence des matières grasses sur les produits de la mouture d'un même blé et avons déterminé parallèlement : le gluten, humide, sec, son hydratation; la teneur en matières grasses, acidité, eau; les caractéristiques des farines à l'extensimètre de Chopin.

Les chiffres obtenus sont groupés dans le tableau XV et illustrés par les graphiques VI et VII.

De l'allure générale des courbes, on remarquera que le taux des matières grasses va en croissant des farines de tête aux farines de queue. L'acidité suit une marche parallèle, cependant que la teneur du gluten sec et son hydratation suivent une marche inverse. Ces résultats ont une importance pratique considérable, car ils permettent, par l'étude analytique du diagramme de mouture, d'éliminer du mélange formant la farine panifiable les passages dont les constantes

(127) PALLAND, *Les aliments*, Paris, Baillière, édit., 1907, 2, 160.

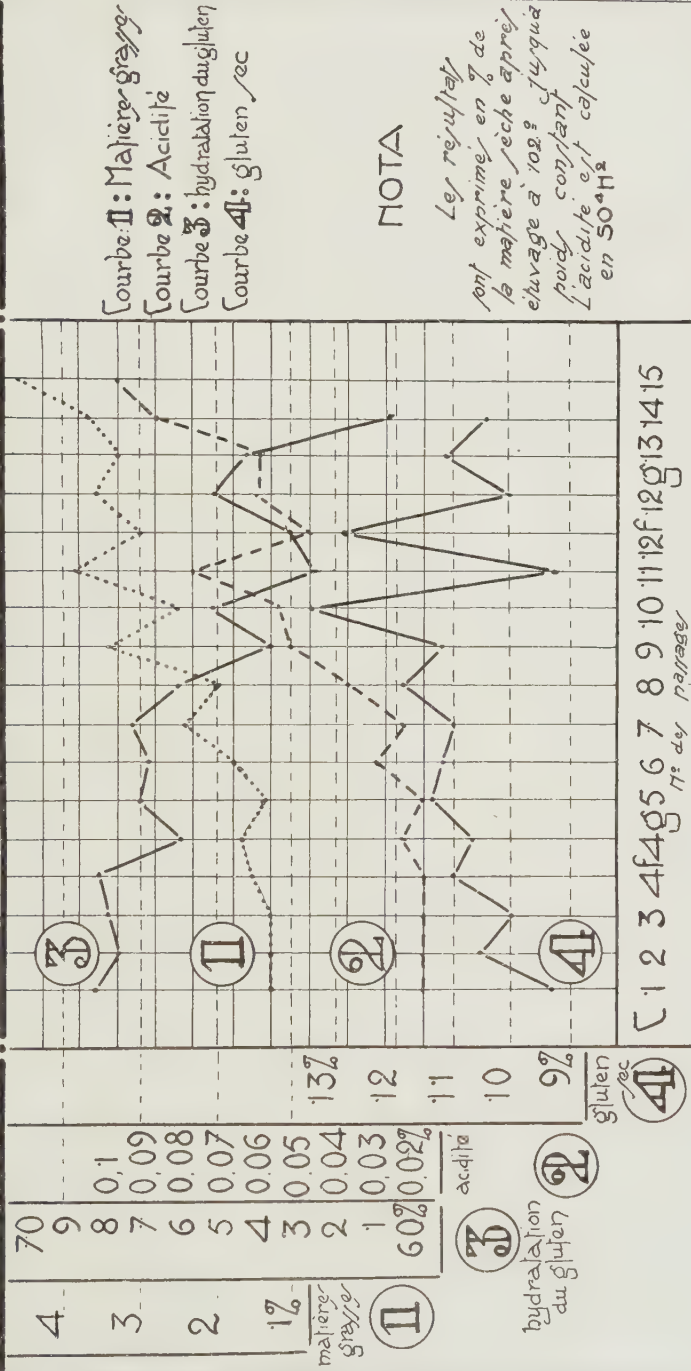
(128) A. DANGOUMAU, *Identification du palmitate de sitostéryle dans les farines de froment*, Procès-verbaux de la Société des sciences physiques, Bordeaux, 16 févr. 1933.

TABEAU COMPARATIF DE L'ANALYSE DES PRODUITS D'UN MOULIN MODERNE

Légende

(convertisseur seulement)

Barcentage



ANALYSE EXTENSIMETRIQUE DE QUELQUES PASSAGES (convertisseur) D'UN MOULIN MODERNE

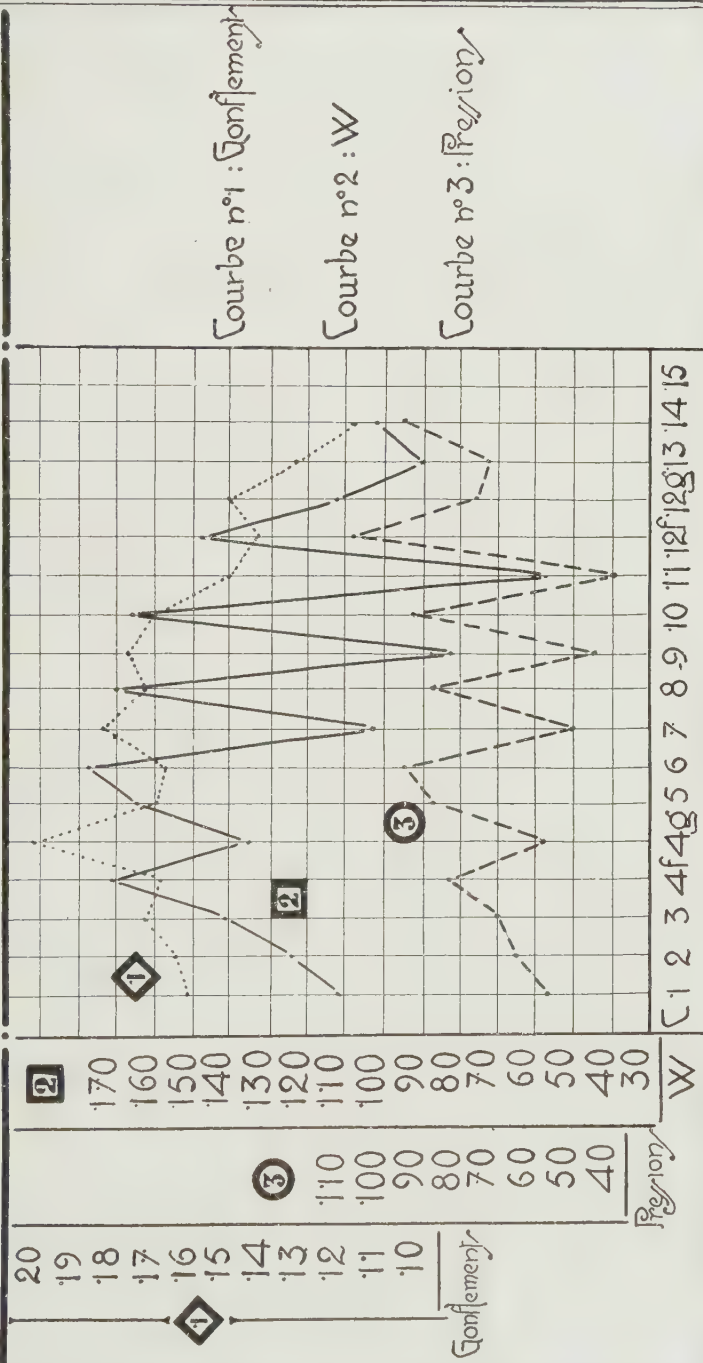


TABLEAU XV

Résultats rapportés à la matière sèche.

NATURE de la FARINE	W	PRESSION	GONFLE- MENT	GLU JEN SEC	HYDRATA- TION	HUMIDITÉ	MATIÈRES GRASSES	ACIDITÉ
Broyeurs 1.....	122	13,2	18,6	—	—	15,75	—	—
— 2.....	150	60,2	49,3	—	—	15,45	—	—
— 3.....	183	64,4	20,2	—	—	15,65	—	—
— 4.....	176,5	63,3	18,8	14,09	67,05	15	2,585	0,034
— 5.....	104	43,8	23	44,485	65,7	14,85	3,395	0,068
— 6.....	82	43,8	19,8	10,96	61	14,5	3,89	0,061
Désagrégeurs 1.....	127	53,5	17,6	9,96	65,2	15,4	4,87	0,041
— 2.....	110	43,1	20	9,69	63,9	15,2	2,27	0,034
— 3.....	99	38,9	21,6	10,36	64,9	14,6	3,58	0,035
— 4.....	180	65	20	11,3	67	15,6	1,50	0,037
— 5.....	112,5	57,2	16,2	9,45	68,8	15,5	1,245	0,021
— 6.....	126,5	65,5	16,5	10,35	68	15,35	1,235	0,021
— 7.....	141	70	17,1	10,185	68,35	15,2	1,245	0,021
— 8.....	171	84,9	17	11,167	66,25	14,65	1,61	0,027
— 9.....	175,5	88,5	16,9	11,60	67,3	14,9	1,525	0,0235
— 10.....	187	94,5	16,8	11,205	67,1	14,45	1,85	0,034
— 11.....	402	47,6	48,4	14,14	66,6	14,75	2,45	0,027
— 12.....	181	88,2	17,5	12,03	66,6	14,25	2,15	0,034
— 13.....	82	43,3	17,6	11,125	64,45	14,45	3,57	0,0515
— 14.....	167	92,3	17	13,555	68,85	14,25	2,64	0,054
— 15.....	60	40,6	15	9,31	64,2	14,15	3,79	0,078
— 16.....	113	76,5	15	10,185	63,5	14,15	3,57	0,061
— 17.....	89	102	13,4	10,015	64,6	13,8	3,45	0,0495
— 18.....	101	95,3	11,9	10,505	61,2	13,35	3,905	0,0885
— 19.....	—	—	—	—	—	13,4	4,77	0,106

sont particulièrement mauvaises. Les meuniers se fondent presque uniquement, pour composer leurs mélanges de farines, sur la blancheur des produits; il conviendrait, surtout en période de qualité médiocre, de tenir un compte plus grand de la composition de ces produits. La détermination des matières grasses est un facteur important de cette connaissance.

Influence des graisses sur la panification.

En possession de ces données, nous avons voulu voir si la fabrication du pain corroborait les conclusions que l'on pouvait énoncer *a priori* sur la valeur boulangère des farines naturelles et dégraissées. Une série d'essais de panification fut entreprise. Ils portèrent :

- a) sur une farine de boulangerie *normale* (extraction 72 %);
- b) la même farine dégraissée;
- c) farine basse (extraction de 72 % à 80 %);
- d) farine basse dégraissée (mais vieille de quatre ans);
- e) farine panifiable du commerce;
- f) farine panifiable du commerce plus 2 % de farine basse dégraissée.

Ces essais ont été contrôlés par :

MM. Gènévois, professeur à la Faculté des sciences;

Mourgues, inspecteur départemental de l'Enseignement technique;

Un capitaine de l'Administration militaire.

Essais sur farines ordinaires. — Des expériences préliminaires nous ayant montré que le dégraissage communiquait aux pâtes une fermeté, une ténacité plus grandes, caractères qui facilitent et permettent les longues fermentations, facteurs essentiels du développement du pain, les essais sur les farines A et B ont été doublés.

L'enfournement se faisait, dans la première série, au moment où les pâtes de farines naturelles arrivent à leur opti-

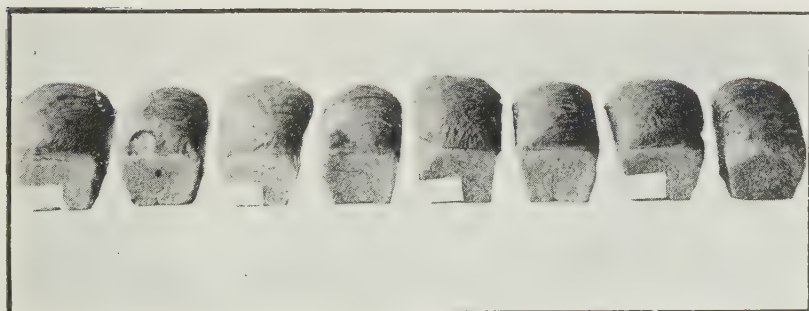
PLANCHE VIII



Farine dégraissée.

Farine naturelle.

PLANCHE IX



imum de fermentation (meilleur *apprêt* en terme de métier). L'enfournement était fait, dans la deuxième série, à l'optimum d'apprêt des pâtes dégraissées. Les pains de ces séries étaient ensuite comparés. Le tableau XVI groupe les renseignements techniques.

TABLEAU XVI

NATURE des FARINES	NU- MÉRO des PÉTRINS	EAU ABSOR- BÉE.	LE- VURE.	SEL	FARINE	DURÉE de la FER- MENTA- TION totale	VO- LUME SPÉCI- FIQUE des pains obtenus.
					gr.	heures	litres
Farine naturelle...	1	65 %	25 gr.	50 gr.	3.000	4 15	2,63
La même dégraissée.	2	68 %	»	»	»	4 15	2,94
Farine naturelle...	3	65 %	»	»	»	5 45	2,91
La même dégraissée.	4	68 %	»	»	»	5 45	3,31

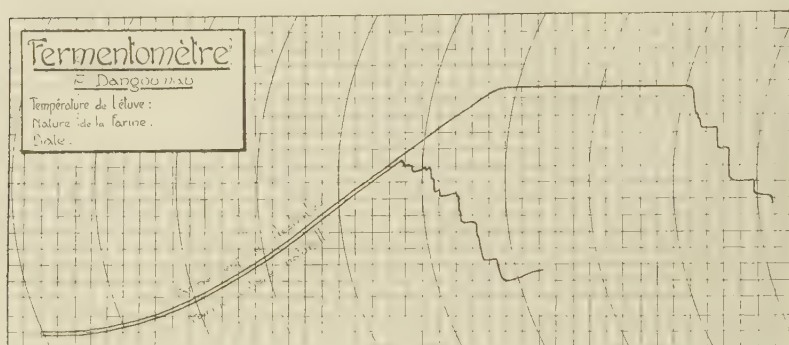
Au résultat de cette expérience, il est visible que la farine dégraissée s'hydrate mieux (68 % d'eau absorbée contre 65 %) et surtout que le volume spécifique du pain est considérablement élevé. L'allure des fermentations a été étudiée au *fermentomètre* (128 bis) (Voir graphique VIII). La pâte dégraissée retient mieux les gaz produits par l'action de la levure, sa cohésion plus grande lui permet une fermentation plus longue (qualité traduite par le palier de la courbe), et le pain s'accroît de tout le gaz supplémentaire ainsi formé. Au contraire, la pâte naturelle atteint rapidement son maximum, et tout le gaz formé ensuite est perdu, la pâte n'ayant plus la cohésion nécessaire pour le retenir. En outre, les qualités plastiques de cette pâte sont devenues mauvaises et le pain formé a un aspect défavorable, au contraire de celui de la pâte dégraissée. Les photos n^{os} 8-9 mettent en évidence ce défaut et cette qualité.

Essais sur basses farines. — La deuxième série d'essais a

(128 bis) A. DANGOUMAU, *Un appareil de mesure de la fermentation panai*re : « le fermentomètre », *Procès-verbaux de la Société des sciences physiques de Bordeaux*, 1932, p. 59.

porté sur les farines basses. Il nous suffira de dire que la farine dégraissée a supporté 76 % d'eau au pétrissage contre 66 % pour la farine fraîche. Tout l'intérêt de cette démonstration résidait dans le fait que la farine dégraissée avait été fabriquée et traitée en 1927, puis conservée pendant quatre ans. La farine naturelle était une farine fabriquée la veille de l'expérience.

GRAPHIQUE VIII



Les photographies 10-11 montrent assez l'énorme différence de développement et de finesse entre les deux groupes de pains sans qu'il soit nécessaire d'ajouter un commentaire.

Essais mixtes. — Dans la troisième expérience, nous avons ajouté à la farine panifiable du commerce, 2 % de farine basse dégraissée (extraction 72,80 %). Ceci dans le but de montrer que l'extraction de la farine panifiable pourrait être sans inconvénient poussée plus loin si les matières grasses n'intervenaient pas pour empêcher la bonne conservation d'une telle farine et la confection d'un pain de qualité.

COMPTE RENDU TECHNIQUE DE L'EXPÉRIENCE.

Dans ce compte rendu, nous avons fidèlement reproduit les observations de l'ouvrier boulanger.

Nous joignons une coupe des pains obtenus montrant l'empreinte de la texture de la mie reproduite par un procédé original.

PLANCHE X



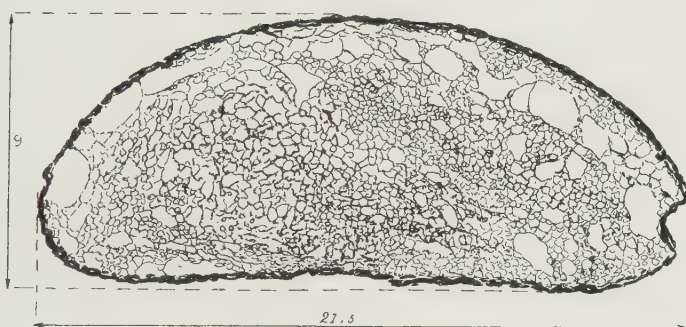
Farine naturelle.

PLANCHE XI



Farine dégraissée.

Farine Naturelle



Farine Dégraissée



N° 1. — Témoin (farine du commerce 72 p. 100).

Farine.....	3.000 grammes.
Eau.....	62 p. 100
Levure.....	30 grammes.
Sel.....	50 »
Poids de la pâte à la fin de la fermentation.	4.845 »
Poids du pain chaud (sortie du four).....	3.832 »
Poids du pain froid (douze heures après)....	3.660 »
Eau p. 100 de farine retenue au moment de la mise au four	58,83 p. 100
Rendement en pâte.....	161,5 »
Rendement en pain chaud	127,73 »
Rendement en pain froid	122 »
Perte à la fermentation	3,16 p. 100
Perte au four	33,76 »
Perte au refroidissement.....	5,73 »
Perte totale.....	42,65 p. 100

Volume occupé par un pain fait avec 400 grammes de pâte	Poids de ce pain
--	---------------------

Litres	Kilos
1,211	0,306
1,215	0,305
1,226	0,298
1,233	0,301
1,220	0,306
1,129	0,289
1,253	0,297
1,205	0,309
1,234	0,305
1,246	0,303
1,297	0,300
1,224	0,301 72

Volume spécifique.....	4 lit. 056
Poids spécifique.....	246.
Volume en pain donné par 100 grammes de farine	0,495.

Pétrissage court et légèrement cassant et humide; la fermentation bonne; la pâte au rompage est devenue bien souple et élastique; à la tourne, elle est légèrement terreuse, et, s'il fallait la rompre une fois de plus, elle deviendrait très terreuse; la fermentation dans les banetons est assez ronde et tient assez bien.

N° 2. — Témoin avec 2 p. 100 de basse farine dégraissée.

Farine.....	3.000 grammes.
Eau.....	62 p. 100
Levure.....	30 grammes.
Sel.....	50 »
Poids de la pâte à la fin de la fermentation.	4.850 »
Poids du pain chaud (sortie du four).....	3.893 »
Poids du pain froid (douze heures après)...	3.655 »
Eau retenue p. 100 de farine à la mise au four..	59 p. 100
Rendement en pâte.....	161,66 »
Rendement en pain chaud.....	129,76 »
Rendement en pain froid.....	121,83 »
Perte à la fermentation.....	3 p. 100
Perte au four.....	31,9 »
Perte au refroidissement.....	7,9 »
Perte totale.....	42,8 p. 100

Volume occupé par un pain fait avec 300 grammes de pâte	Poids de ce pain
--	---------------------

Litres	Kilos
1,320	0,304
1,355	0,305
1,320	0,303
1,296	0,307
1,290	0,308
1,390	0,300
1,328	0,303
1,332	0,303
1,331	0,303
1,344	0,305
1,344	0,303
1,331	0,30345

Volume spécifique $\frac{V}{I}$ 4 lit. 386

Poids spécifique $\frac{P}{I}$ 227

Volume en pain donné par 100 grammes
de farine 0,534

Pétrissage assez souple, mais très humide, devenu élastique à la fermentation et tient bien au rompage, mais reste un peu humide. La tourne très souple et élastique; fermentation dans les banetons ronde et très belle, tient bien la pousse.

Cette expérience conclut dans le même sens que les deux premières. La farine à 72 % est légèrement améliorée par l'apport de 2 % de basse farine, riche en gluten, mais qui, sans le dégraissage, ne pourrait être utilisée convenablement.

Ajoutons un dernier caractère : la couleur du pain est toujours améliorée par le défaut des matières grasses.

Rôles des phosphatides.

Enfin, dans une dernière expérience, nous avons contrôlé les essais de Sullivan et Near⁽¹²⁹⁾ sur les phosphatides, que nous avons mentionnés au début de ce travail.

En ajoutant à une farine normale 0,5 % de lécithine de l'œuf, le gluten se rassemble mal; avec 1 %, il fuit complètement dans les doigts. Cependant, si les qualités plastiques sont fortement modifiées, le poids des protides insolubles reste sensiblement le même.

Nature de la farine	Gluten			Observations
	humide	sec	hydratation	
Farine naturelle n° 1...	24,45	8,67	64,5	normal
La même, plus 0,5 p. 100 lécithine.....	24,33	8,43	65,2	gluant, filant
Farine naturelle n° 2...	26,25	9,63	63,3	normal
La même, plus 1 p. 100 lécithine.....	24,12	8,61	64,3	fuit dans la main

Assez curieusement l'hydratation paraît avoir été augmentée.

Berliner et Koopmann expliquent ce fait en rapportant la propriété des phosphatides de retenir l'eau en formant des émulsions.

Des farines panifiées après incorporation de 0,5 % de lécithine de l'œuf (quantité de lipoïdes bien supérieure à la nor-

(129) SULLIVAN et NEAR, *Lipoid phosphosed of wheat and its distribution*, *Cereal chemistry*, 1928, 5, 163.

male) n'ont montré aucune modification notable de leur qualité panifiante. Il en est de même en ajoutant la même quantité d'une huile quelconque.

Les résultats sont plutôt obtenus par la suppression des matières grasses naturelles qui existent très finement divisées dans la masse que par l'addition de graisses, qui sont forcément mélangées de la façon la plus grossière et interviennent alors assez peu dans les phénomènes colloïdaux de la panification.

CONCLUSIONS

En résumé, les matières grasses de la farine jouent un faible rôle dans le bilan calorifique du pain, fait déjà démontré par Fleurent. Elles ont une influence faible, sinon nulle, comme vecteur de la vitamine A. Enfin, leur présence nuit à la bonne conservation de la farine et à la qualité du pain.

VU : *Le Doyen,*
G. DUPONT.

VU, BON A IMPRIMER :

Le Président,
A. RICHARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 27 juin 1933.
Le Recteur de l'Académie,

A. TERRACHER.

